

Aus der II. Inneren Abteilung des  
Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln  
Chefärztin: Prof. Dr. I. Boll

---

**Beeinflussung der Proliferation  
normaler Knochenmarkzellen und der Blutzellen  
myeloproliferativer Erkrankungen:  
Wirkung gefrorener Seren zweier Patienten  
mit erhöhten Mitoseindices bei akuter Leukämie  
(AMMoL, AMoL) in Langzeitkulturen**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Hartmut Barth

Wehn

1984



Aus der II. Inneren Abteilung des  
Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln  
Chefärztin: Prof. Dr. I. Boll

---

Beeinflussung der Proliferation normaler  
Knochenmarkzellen und der Blutzellen  
myeloproliferativer Erkrankungen:  
Wirkung gefrorener Serien zweier Patienten  
mit erhöhten Mitoseindices bei akuter  
Leukämie (AMoL, AMoL) in Langzeitkulturen

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Hartmut Barth  
Wehn

Referent: Prof. Dr. Irene Boll

Korreferent: Prof. Dr. D. Huhn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche  
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 30.11.84

## INHALTSVERZEICHNIS

---

|                                                                               | Seite   |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Abkürzungen                                                                   | 5       |
| <br>                                                                          |         |
| 1 <u>EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG</u>                                         |         |
| 1.1 Einleitung                                                                | 6       |
| 1.1.1 Humorale Regulation der Erythropoese                                    | 6       |
| 1.1.2 Humorale Regulation der Granulopoese                                    | 10      |
| 1.1.3 Besondere Aspekte der humoralen Regulation bei myeloischen<br>Leukämien | 15      |
| 1.2 Fragestellung                                                             | 17      |
| <br>                                                                          |         |
| 2 <u>MATERIAL UND METHODEN</u>                                                |         |
| 2.1 Material                                                                  | 18      |
| 2.1.1 Leukämie-Seren                                                          | 18      |
| 2.1.2 Autologe Seren                                                          | 20      |
| 2.1.3 Knochenmarkzellen                                                       | 20      |
| 2.1.4 Blutzellen                                                              | 22      |
| 2.2 Methoden                                                                  |         |
| 2.2.1 Ansatz der Knochenmarkkulturen                                          | 26      |
| 2.2.2 Ansatz der Blutkulturen                                                 | 27      |
| 2.2.3 Klassifikation und Auswertung                                           | 27      |
| 2.2.4 Statistik                                                               | 29      |
| <br>                                                                          |         |
| 3 <u>ERGEBNISSE</u>                                                           |         |
| 3.1 Zellmorphologie                                                           | 31      |
| 3.2 Ergebnisse der Versuchsreihe I (Knochenmarkkulturen)                      | 32 - 71 |
| 3.2.1 Versuch I                                                               | 32      |
| 3.2.2 Versuch II                                                              | 39      |
| 3.2.3 Versuch III                                                             | 46      |
| 3.2.4 Versuch IV                                                              | 53      |
| 3.2.5 Zusammenfassung der Versuchsreihe I (normale Knochenmark-<br>zellen)    | 60      |

|                                                                                                         | Seite     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.3 Ergebnisse der Versuchsreihe II (Blutkulturen)                                                      | 72 - 95   |
| 3.3.1 Versuch V (CML-Blut)                                                                              | 72        |
| 3.3.2 Versuch VI (CML-Blut)                                                                             | 76        |
| 3.3.3 Versuch VII (CML-Blut)                                                                            | 80        |
| 3.3.4 Versuch VIII (OMS-Blut)                                                                           | 83        |
| 3.3.5 Versuch IX (CMoL-Blut)                                                                            | 86        |
| 3.3.6 Zusammenfassung der Versuchsreihe II (Blutzellen bei<br>myeloproliferativen Syndromen)            | 89        |
| 4 <u>DISKUSSION</u>                                                                                     |           |
| 4.1 Anmerkungen zur methodischen Vorgehensweise                                                         | 96        |
| 4.2 Diskussion der Ergebnisse der Versuchsreihe I (Knochenmark-<br>zellen)                              | 97 - 115  |
| 4.2.1 <u>Erythropoese</u>                                                                               | 97 - 105  |
| 4.2.1.1 Diskussion der eigenen Ergebnisse                                                               | 97        |
| 4.2.1.2 Diskussion der eigenen Ergebnisse im Vergleich zu<br>denen anderer Autoren                      | 100       |
| 4.2.1.3 Vergleich der Proliferation in vivo und in vitro                                                | 104       |
| 4.2.2 <u>Granulopoese</u>                                                                               | 106 - 115 |
| 4.2.2.1 Diskussion der eigenen Ergebnisse im Vergleich zu<br>denen anderer Autoren                      | 109       |
| 4.2.2.3 Zusammenfassung                                                                                 | 114       |
| 4.3 Diskussion der Ergebnisse der Versuchsreihe II (Blutzellen bei<br>myeloproliferativen Erkrankungen) | 115       |
| 5 <u>ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT</u>                                                                     | 119       |
| 6 <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>                                                                           | 120       |
| 7 <u>ANHANG: TABELLEN UND SIGNIFIKANZBERECHNUNGEN</u>                                                   |           |
| 7.1 Versuchsreihe I (Versuche I - IV)                                                                   | 146       |
| 7.2 Versuchsreihe II (Versuche V - IX)                                                                  | 153       |

# ABKÜRZUNGEN

|                   |                                                                         |                 |                                                                          |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------------------------------|
| abs.              | absolut                                                                 | Hb <sub>E</sub> | Hb-Gehalt des Einzel-Erythrozyten                                        |
| ALP               | alkalische Leukozyten-phosphatase                                       | Hkt             | Hämatokrit                                                               |
| Alpha-NA-Esterase | Alpha-Naphthylacetat-Esterase                                           | LF              | Laktoferrin                                                              |
| AML               | akute myeloische Leukämie                                               | LIA             | "leukemia cell-derived inhibitory activity"                              |
| AMMoL             | akute myelo-monozytäre Leukämie                                         | Mak             | Makrophagen                                                              |
| AMoL              | akute Monoblastenleukämie                                               | M-CSF           | "macrophage-colony stimulating factor"                                   |
| AMMoL-S           | AMMoL-Serum                                                             | MG              | Molekulargewicht                                                         |
| AMoL-S            | AMoL-Serum                                                              | MGI             | "macrophage-growth-inducer"                                              |
| BFU-E             | "burst forming unit-erythroid"                                          | MGI-1           | MGI mit Wirkung auf normale Granulozyten-Makrophagen-Vorläuferzellen     |
| BSG               | Blutsenkungsgeschwindigkeit                                             | MGI-2           | MGI mit Wirkung auf leukämische Granulozyten-Makrophagen-Vorläuferzellen |
| CFU-C             | "colony forming unit-culture"                                           | MGI-1G          | "MGI-1-granulocyte"                                                      |
| CFU-e             | "colony forming unit-erythroid"                                         | MGI-1GM         | "MGI-1-granulocyte-macrophage"                                           |
| CFU-S             | "colony forming unit-spleen"                                            | MGI-1M          | "MGI-1-macrophage"                                                       |
| CIA               | "colony inhibiting activity"                                            | min             | Minuten                                                                  |
| CML               | chronische myeloische Leukämie                                          | Mo/G-I          | Monopoese/Granulopoese-Index (s.S. 29)                                   |
| CMMoL             | chronische myelo-monozytäre Leukämie                                    | MoL             | Leukämien mit monozytärer Beteiligung (AMoL u. AMMoL)                    |
| CMoL              | chronische monozytäre Leukämie                                          | MoL-S           | MoL-Serum                                                                |
| CSA               | "colony stimulating activity"                                           | OMS             | Osteomyelosklerose                                                       |
| CSF               | "colony stimulating factor"                                             | p               | "probability"                                                            |
| d                 | Tage                                                                    | PAS             | "periodic acid Schiff reaction"                                          |
| Ebl               | Erythroblasten                                                          | PGE             | Prostaglandin E                                                          |
| Ebl-RI            | Ebl-Reifungsindices (s.S. 28)                                           | Ph <sub>1</sub> | Philadelphia-Chromosom                                                   |
| Es                | Eigenserum                                                              | POX             | Peroxydase                                                               |
| Gbl               | Granuloblasten                                                          | S <sub>m</sub>  | Standardabweichung des Mittelwertes                                      |
| Gbl-RI            | Gbl-Reifungsindices (s.S. 28)                                           | Temp            | Temperatur                                                               |
| G-CSF             | "granulocyte-colony stimulating factor"                                 | U               | Umdrehungen                                                              |
| G/E-I             | Granulopoese/Erythropoese-Index (s.S. 29)                               | $\bar{X}$       | arithmetischer Mittelwert                                                |
| GEMM-CFU          | "granulocyte-erythroblast-megakaryocyte-macrophage-colony forming unit" | Zus             | Zusatz                                                                   |
| Gz                | Granulozyten                                                            |                 |                                                                          |
| h                 | Stunden                                                                 |                 |                                                                          |
| Hb                | Hämoglobin                                                              |                 |                                                                          |

## 1. Einleitung und Fragestellung

### 1.1 Einleitung

Nach den heute vorliegenden Erkenntnissen lassen sich die erythropoetischen und granulopoetischen Zellpopulationen durch ein System von drei einander nachgeordneten Kompartimenten beschreiben. An der Spitze steht das Kompartiment der pluripotenten Stammzellen mit der Fähigkeit zur Selbstreplikation, aus dem durch Differenzierung Zellen in das nächste Kompartiment der determinierten Stammzellen übergehen. Sowohl die Differenzierungspotenz als auch die Fähigkeit zur Selbsterhaltung nehmen dabei ab. Weitere Differenzierungsschritte führen letztlich in das dritte Kompartiment der morphologisch als erythropoetisch oder granulopoetisch identifizierbaren reifenden Zellen, an dessen Ende die Fähigkeit zur Proliferation verloren geht (29,44,203,256).

Um das Gleichgewicht dieser Zellpopulationen aufrecht zu erhalten und die Anpassung an einen veränderten Bedarf zu ermöglichen, ist die Regulation durch eine Reihe humoraler Substanzen erforderlich. Solche humoralen Stimulatoren bzw. Inhibitoren sind für die normale Erythropoese und Granulopoese, in letzter Zeit auch für andere Zellreihen beschrieben worden (117,217). Vieles spricht für die Bedeutung humoraler Regulatoren auch in der leukämischen Hämatopoese (122,206,217,222).

#### 1.1.1 Humorale Regulation der Erythropoese

Der am längsten bekannte und am besten untersuchte Stimulator der Erythropoese ist das Erythropoetin (132). Es ist bis heute der einzige bekannte humorale Regulator der Hämatopoese, dessen Bedeutung auch in vivo allgemein akzeptiert wird. Bisher wurde menschliches Erythropoetin nur aus dem Urin anämischer Patienten in reiner Form isoliert. Es handelt sich biochemisch um ein sialinsäurehaltiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 39.000. Neben der Bildung in den Nieren ist auch die extrarenale Bildung, vor allem in der Leber, beschrieben (132). Nach neueren Untersuchungen an Mäusen können auch stimulierte Makrophagen Erythropoetin bilden (280-282,348). Erythropoetin wirkt sowohl auf die Zellen des Proliferations- und Reifungsspeichers der Erythropoese als auch auf die Erythropoetin-empfindlichen Zellen (ERC) im Kompartiment der determinierten Stammzellen stimulierend (34,102,132),

nach Ansicht einiger Autoren auch auf das Kompartiment der pluripotenten Stammzellen (213,214,335-338) und die Zellen der Granulopoese (34). Im Proliferationsspeicher der Erythropoese fördert Erythropoetin nicht nur in vivo, sondern auch in vitro sowohl die Regeneration als auch die Reifung der Erythroblasten durch Verkürzung der Zellzykluszeiten und Reifungszeiten (34,95,102,132). Die Hauptwirkung des Erythropoetins besteht jedoch in seiner Beeinflussung der Zellen des erythropoetisch determinierten Stammzellspeichers. Diese Zellen sind im Gegensatz zu denen des Proliferations- und Reifungsspeichers lichtmikroskopisch nicht zu identifizieren. Bisher sind drei Zelltypen anhand ihrer Koloniebildung in Methylzellulose- und Koagulumkulturen sowohl tierexperimentell (6,137,205,319) als auch für den Menschen (136,161,73,257,258,326) charakterisiert. Die "burst forming units" (BFU-e) bilden bei Mäusen im Verlauf von 10 Tagen große Ansammlungen kleinerer Kolonien, sogenannte "bursts", die CFU-e innerhalb von 2 Tagen kleine Kolonien von Erythroblasten. Bei menschlichen Zellen beansprucht die Koloniebildung einen längeren Zeitraum. In den letzten Jahren wurde auch die Bildung kleinerer "bursts" aus sogenannten "intermediate BFU-e", einer Zwischenstufe in der Entwicklung der frühen BFU-e zur CFU-e, beobachtet (136,257,258,48,92,137). Die Erythropoetinsensibilität der Zellen des erythropoetisch determinierten Stammzellspeichers steigt dabei mit zunehmendem Differenzierungsgrad der Zellen (137,157,158,326): So spricht die früheste bekannte erythropoetisch determinierte Stammzelle BFU-e erst auf wesentlich höhere Erythropoetinkonzentrationen an als die reifere CFU-e. Die wichtigste Erythropoetinwirkung im Stammzellspeicher besteht somit in der Stimulation der späten erythropoetischen Vorläuferzellen zu Proerythroblasten.

Neben Erythropoetin werden im Stammzellspeicher andere Stammzellstimulatoren wirksam, welche chemisch noch nicht näher charakterisiert sind. Es handelt sich, soweit bekannt, um Glykoproteine mit einem Molekulargewicht von 30.-45.000 (1,64,119,158), die insbesondere die Proliferation der BFU-e, aber auch z. T. der CFU-e stimulieren. Ihre Anwesenheit senkt die Erythropoetinschwelle der Zellen (157,158,339,340). Ihre Aktivitäten werden in der Literatur als "burst promoting activity" (BPA) (158,159), "burst forming activity" (BFA) (340), "burst enhancing activity" (BEA) (340), "erythroid enhancing activity" (EEA) (1), "erythroid-potentiating activity" (EPA) (119,4) und "regulatory protein" (RP) (90) bezeichnet und wurden aus unterschiedlichen Quellen sowohl bei Menschen als auch bei Tieren isoliert: u. a. aus Kultur-

überständen von Lymphozyten (225,158,312), Milzzellen (158,92,156,294,340), Knochenmarkzellen (48,340) und menschlichen Leukozyten (7,136,252), den sogenannten "konditionierten Medien". Sie wurden außerdem in monozytären Zellen (1,4), malignen Zellen (4,119) sowie fetalen Seren (137,158,257,258, 326,340) und im Serum (255) und Urin (90) von Anämie-Patienten nachgewiesen. Ob es sich hierbei um eine heterogene Gruppe ähnlicher Faktoren oder um ein einziges Molekül mit BPA-Wirkung handelt, ist noch nicht geklärt (1,64,156, 158). Auch die Beziehung dieser Faktoren zu einem weiteren Glykoprotein, dem "colony stimulating factor" (CSF), ist zur Zeit noch Gegenstand der Forschung (156,335-338).

Die am besten untersuchte BPA ist in der Lage, das Wachstum der BFU-e auch in Erythropoetin-freien Medien zu stimulieren bzw. bei späterem Zusatz von Erythropoetin in Methylzellulose mit einer Latenz von einigen Tagen "bursts" zu bilden (158,159). Nach dem Zwei-Regulatoren-Modell von ISCOVE soll mit zunehmender Differenzierung die Zahl der BPA-Rezeptoren ab- und die der Erythropoetinsrezeptoren zunehmen (157). Eine vollständige Ausreifung der BFU-e zu Erythroblasten ist mit BPA alleine nicht zu erreichen (73,92,93,158,258,340).

Neben den oben genannten Stammzellstimulatoren und dem Erythropoetin wurden in den letzten Jahren noch einige weitere Stimulatoren der Erythropoese beschrieben, die z.T. auf die erythropoetischen Vorläuferzellen und z. T. auf den Proliferations- und Reifungsspeicher wirken.

So beschreiben KURTZ et al. (183) einen Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor mit einem Molekulargewicht von 7.500 (283), der auf die gleiche Zellpopulation wirkt wie das Erythropoetin und im Knochenmark von Mäusen dosisabhängig das Wachstum der CFU-e stimuliert. Des weiteren wurde ein sog. "erythroblast enhancing factor" (EEF) mit hohem Molekulargewicht (ca. 130.000) aus menschlichen Seren Gesunder und aus Mäuse-Seren isoliert (176,177). Er wirkt synergistisch mit Erythropoetin auf den Proliferations- und Reifungsspeicher. EEF wirkt dabei, gemessen am <sup>59</sup>Fe-Einbau in Häm, im Vergleich zu Erythropoetin stärker auf den postmitotischen Erythroblastenpool. Dabei scheint nicht nur die Zahl der Erythroblasten vermehrt zu werden, sondern auch die mittlere <sup>59</sup>Fe-Inkorporation pro Erythroblast erhöht zu sein. Auch UDUPA et al. (329) und DEXTER et al. (82) beschreiben in Seren von Mäusen einen ähnlichen, von Erythropoetin verschiedenen Stimulator der Erythropoese.

Neben den oben genannten Stimulatoren werden in der Literatur auch eine Vielzahl niedermolekularer Inhibitoren der Erythropoese beschrieben, deren Beziehung untereinander mangels ausreichender biochemischer Charakterisierung noch nicht geklärt ist.

Zu ihnen gehört das von KIVILAASKO, RYTOMAA u.a. beschriebene Erythrozyten-chalon (169,170,292). Es kann aus dem Überstand von Erythrozyten isoliert werden, hat ein Molekulargewicht zwischen 500 - 10.000 (wahrscheinlich um 1.000) und hemmt die  $^3\text{HTdR}$ -Aufnahme in Erythroblasten. Andere Zellreihen werden nicht beeinflusst. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch BATEMAN (11,12), STANCYKIEWICZ (313) und LORD (194,195) mit veränderten Versuchsansätzen. Ein von menschlichen Erythrozyten abgegebener und möglicherweise mit dem Erythrozyten-Chalon identischer Inhibitor, der spezifisch den Proliferations- und Reifungsspeicher der menschlichen Erythropoese beeinflusst, wurde von MORIYAMA aufgeführt (240). Die Proliferation der determinierten Stammzellen in Agarkultur wird durch diesen Faktor nicht beeinflusst.

Einen weiteren sog. "erythropoiesis inhibiting factor" (EIF), welcher möglicherweise auch mit dem Erythrozyten-Chalon identisch ist, beschrieben LINDMANN und andere Autoren im Urin Neugeborener (77,188,189). Andere Untersucher fanden EIF auch im Serum (247) bzw. Überstand normaler Erythrozyten (246).

Über Inhibitoren, welche vor allem auf den Stammzellspeicher wirken, berichteten NISSEN (253) und FREEDMAN (111) in menschlichen Seren bei Urämie. Es handelt sich im Gegensatz zu den vorher genannten Hemmfaktoren um höhermolekulare Substanzen (MG: 47. - 150.000).

Hemmfaktoren der Erythropoese sind jedoch nicht nur Produkte erythropoetischer Zellen, sondern können auch von Granulozyten abgegeben werden. Der "neutrophil derived inhibiting factor" (NDIF) hemmt neben den granulozytären Vorstufen vor allem die erythropoetischen Vorläuferzellen gemessen am  $^3\text{HTdR}$ -Markierungsindex, Mitoseindex und an der Zahl der CFU-e-Kolonien (74,143,263).

Ein weiteres Beispiel ist der von Makrophagen, Monozyten und Lymphozyten produzierte CSF (s. a. S. 10), der nach Ansicht einiger Autoren auf Stammzellebene die erythropoetische Differenzierung zu Gunsten der granulopoetischen

hemmt, ohne die Zellen des Proliferations- und Reifungsspeichers zu beeinflussen (335-338).

In den letzten Jahren wurde auch über eine hemmende Wirkung hochmolekularer Lipoproteine auf die Erythropoese berichtet. Sie wurden bisher im Plasma Gesunder und an Malignomen erkrankter Ratten (349,350), sowie im normalen menschlichen Serum (87) beschrieben. Ihre Wirkung besteht in einer Hemmung der CFU-e-Proliferation, DNA-Synthese, Proteinsynthese und Hämsynthese. Im Plasma von Ratten gehören sie der VLDL-Fraktion an, während im menschlichen Plasma nur die LDL- und HDL-Fraktion hemmend wirkt.

## 1.2 Humorale Regulation der Granulopoese

Auch in der Granulopoese bestehen, wenn auch in komplexerer Form, Regulationsmechanismen wie in der Erythropoese. Seit der ersten Beschreibung von Nachweismethoden der pluripotenten Stammzelle durch TILL und MCCULLOCH (325) und der determinierten Stammzelle durch PLUZNITZ und SACHS (270) bzw. BRADLEY und METCALF (45) sind eine Reihe von Substanzgemischen oder gereinigten Faktoren beschrieben worden, welche als Stimulatoren oder Inhibitoren wirken.

Auf der Seite der positiven Feedback-Mechanismen sind zunächst solche Faktoren zu nennen, welche die Granulozytenabgabe aus der Knochenmarkreserve beeinflussen, z.B. der "leucocytosis-inducing factor" (LIF) (131), das "leucopoietin G" (21), die "neutrophil-releasing activity" (NRA) (26) und der "leucocyte endogenous mediator" (LEM) (165).

Auf der anderen Seite stehen Faktoren, die am mitotischen Pool angreifen und direkt die Proliferation granulopoetischer Zellen beeinflussen. Am besten untersucht und dabei an erster Stelle genannt ist der von der Gruppe um METCALF beschriebene "colony stimulating factor" (CSF) (104,216,217,220,222, 235, 56). Er wird von anderen Autoren auch "macrophage-granulocyte inducer" (MGI) (98,185,197) genannt, oder vielfach auch als "colony stimulating activity" (CSA) (66,103,122,142,144,217) bezeichnet, da es sich dabei oft um ein Faktorengemisch handelt. Es besteht aus einer Gruppe von Glykoproteinen mit unterschiedlichen Molekulargewichten je nach Isolierungsquelle. Allen gemeinsam ist die stimulierende Wirkung auf die Proliferation der gemeinsamen

Vorläuferzelle der Granulo- und Monopoese, der "colony forming unit" (CFU-C) in Agar- bzw. Methylzellulosekultur. Die Höhe des CSF-Spiegels soll dabei die Differenzierungsrichtung sowohl der normalen als auch der leukämischen CFU-C beeinflussen (68,129,212,222,236,264). Einige Autoren vertreten darüber hinaus die Ansicht, daß schon die Differenzierungsrichtung von Vorstufen der CFU-C durch CSF beeinflußt werde (s.a. S. 9).

Als Quellen des CSF gelten beim Menschen hauptsächlich die Zellen des Monozyten-Makrophagen-Systems (28,70,75,125-127,180,236,238,297,331) und lymphozytäre Zellen (76,272,287,297). Dies erklärt die Extrahierbarkeit des CSF aus zahlreichen Geweben. Auch einige leukämische Zellen produzieren CSF (84, 85,124,128,142,200,260). Ausgeschieden wird CSF im Urin in einer auf menschliche Zellen inaktiven Form, die jedoch dem CSF ähnliche antigenetische Eigenschaften zu haben scheint, und bei der es sich möglicherweise um ein Abbauprodukt des aktiven CSF handelt (20,217,218,285). MOTOYOSHI findet im Gegensatz dazu eine auch auf menschliche Zellen aktive Form des CSF im menschlichen Urin (242,243).

Neuerdings wurden auch Untergruppen des CSF mit unterschiedlicher Wirkung auf die Proliferation der granulozytären bzw. monozytären Zellen (152,315) und unterschiedlicher Fähigkeit zur Induktion der Differenzierung permanenter leukämischer Zelllinien gefunden (98,100,187,196,215,232,233). So sind bei der Maus bis heute wenigstens drei Untergruppen mit unterschiedlichen Molekulargewichten bekannt. Diese sind (a) der M-CSF (24,314) bzw. MGI-1M (197), dessen Wirkung sich im wesentlichen auf die Proliferation der Makrophagen-Vorläuferzellen erstreckt; (b) der GM-CSF (67,217) bzw. MGI-1GM (185), bestehend aus wenigstens zwei antigenetisch verschiedenen Subtypen, welches auf die Granulozyten- wie die Makrophagen-Vorläuferzellen wirkt; (c) der G-CSF (65,233,248) bzw. MGI-1G (197), der hauptsächlich die granulozytären Vorstufen beeinflußt.

GM-CSF (99,100,198,187) und insbesondere G-CSF (65,211,233) sind zudem in der Lage, die Differenzierung bestimmter leukämischer Zelllinien, die sich von menschlichen oder Mäuse-Knochenmarkzellen ableiten, sowohl in granulozytärer als auch in monozytärer Richtung zu induzieren. G-CSF wird deshalb auch "differentiation factor" (GM-DF) genannt (65,209,233,248). Auch LOTEM und SACHS führen einen solchen Faktor auf. Dieser MGI-2 (196) steht im Gegensatz zu MGI-1 (98,186,197,210,211,248), der nur auf normale Zellen

wirkt und möglicherweise mit dem GM-DF identisch ist.

MOORE et al. fanden einen weiteren derartigen Faktor im Serum von Mäusen, den sie "tumor necrosis factor" (TNF) nannten (231,233).

Solche CSF- bzw. MGI-Untergruppen werden in zunehmendem Maße auch für das Humansystem beschrieben (80,232,250,259).

Neben Angaben zu CSF finden sich in der Literatur auch zahlreiche Berichte über solche Faktoren, die ihre Wirkung nicht direkt, sondern durch eine Stimulation anderer Zellen zur CSA- Synthese oder CSA-Abgabe ausüben (8,9,28, 107,109,130,242).

Weiterhin sind in der Literatur Beschreibungen von Stimulatoren ohne Koloniestimulierende Wirkung zu finden, z.B. der "granulopoiesis inducing factor" (GIF) (191,24) und die "synergistic activity" (SA) (175). Ihr Verhältnis zu CSF ist noch unklar. Zu dieser Gruppe gehört auch der "factor increasing monocytopoiesis" (FIM) (332-334). Es handelt sich um ein Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 20.000, welches aus den Seren von Mäusen und Kaninchen mit steriler Peritonitis isoliert wurde. FIM stimuliert spezifisch die Proliferation der Promonozyten und wahrscheinlich auch der Monoblasten und ruft dadurch bei gesunden Tieren in vivo eine Monozytose hervor. Freigesetzt wird es wahrscheinlich durch Makrophagen.

Neben den bisher erwähnten Stimulatoren der determinierten Stammzellen und reiferen Zellen der Granulopoese werden sowohl Stimulatoren als auch Inhibitoren mit alleiniger Wirkung auf die pluripotente Stammzelle CFU-S bei Mensch und Tier beschrieben (78,192,193,327,328,347).

Die negativen Rückkopplungsmechanismen sind durch die Vielzahl der verschiedenen Inhibitoren und deren gegenseitige Beeinflussung (49) komplexer als die der positiven Rückkopplung. Ihr System ist auch heute noch nicht überschaubar.

Monozyten und Makrophagen, die zu den wichtigsten Quellen des CSF gehören, synthetisieren und sezernieren zusätzlich einen direkten kompetitiven Antagonisten des CSF, das Prostaglandin E (PGE) (179-181,154,268). PGE setzt seinem Wirkungsmechanismus entsprechend die Ansprechbarkeit der CFU-C gegenüber CSF herab (181,182). Nach PELUS et al. hemmt es vorwiegend die Proli-

feration monozytärer Vorläuferzellen, wobei sich die Wirkung auf normale Knochenmark- und Blutzellen erstreckt (266,268). Leukämische Zellen werden dagegen nicht beeinflusst (267,322,323). Die Regulation der PGE-Synthese in den Makrophagen scheint durch die Höhe der CSF-Konzentration im umgebenden Milieu beeinflusst zu werden (179,180,268,323). Zellseparationsversuche machen die Annahme wahrscheinlich, daß CSF und PGE von verschiedenen Makrophagenpopulationen gebildet werden (234).

Ein zweiter von den Zellen des monozytären Systems abgegebener Hemmfaktor, die "leukemia cell-derived inhibitory activity" (LIA), hemmt wie PGE selektiv die Proliferation normaler CFU-C, ohne leukämische CFU-C zu beeinflussen (50,54,57,58). Auf die normale Diffusionskammer-Vorläuferzelle CFU-D und normale Granuloblasten wirkt LIA ebenfalls nicht (57), denn ihre Wirksamkeit hängt vom Differenzierungsgrad, erkennbar am Vorhandensein Ia-ähnlicher antigener Determinanten ab (51). Sowohl PGE als auch LIA können damit zu einem Proliferationsvorteil für leukämische Zellen führen (49,58). Das wirksame Prinzip der LIA wurde vor kurzem von BOGNACKI et al. und BROXMEYER et al. als saures Isoferitin, ein hitzestabiles Glykoprotein (MG: 450. - 550.000), identifiziert (27,52). Entgegen früheren Annahmen ist LIA jedoch kein Leukämie-spezifischer Hemmfaktor, da er inzwischen, wenn auch in wesentlich geringeren Mengen, ebenfalls bei Normalpersonen nachgewiesen wurde (50,52). Bei akuten Leukämien wird er in höherer Konzentration abgegeben als bei den chronischen Leukämieformen (55,57,58).

OLOFSSON et al. fanden einen ebenfalls hochmolekularen Hemmfaktor in Zellen der menschlichen Promyelozyten-Zelllinie HL-60, den sie "leukemia-associated inhibitor" (LAI) nannten, und der wahrscheinlich mit LIA identisch ist (262).

Neben den monozytären Zellen sondern auch granulozytäre Zellen Inhibitoren der Granulopoese ab. Zu diesen zählt das von BROXMEYER erstmals nachgewiesene Laktoferrin (LF) (59,60-62,49), das indirekt durch Hemmung der Synthese und Freisetzung des CSF aus monozytären Zellen wirkt (266,268). Die CSF-Abgabe der Lymphozyten wird dagegen nicht gehemmt (49,53). Sein Einfluß erstreckt sich auf die bipotenten Vorläuferzellen der Granulo- und Monopoese, nach neueren Untersuchungen eventuell auch auf noch unreifere Zellen (GEMM-CFU) und BFU-e (49). Freigesetzt wird es aus reifen Granulozyten sowohl Gesunder als auch an myeloischen Leukämien erkrankter Patienten, jedoch in unterschiedlichem Maße (61,62,49). Es hemmt die Produktion und/ oder Abgabe der LIA sowie die des PGE

durch die Zellen des monozytären Systems (49). Vor seiner Identifizierung als Laktoferrin (59) wurde es auch als "granulocyte extract" (GE) und als "colony inhibiting activity" (CIA) bezeichnet (61,62).

PHILIP et al. fanden einen in vitro aus phagozytierenden Granulozyten freigesetzten Hemmfaktor mit ähnlichen Eigenschaften wie LF (269).

Zu der Gruppe der Inhibitoren aus reifen Granulozyten zählen weiter das Granulozyten-Chalon bzw. Chalon-ähnliche Substanzen, eine Gruppe niedermolekularer Proteine mit einem Molekulargewicht von  $< 4.000$ , nach neueren Untersuchungen zwischen 500 - 600 (12,14,195,265,288,292). Die Wirkung der Chalone ist reversibel, nicht toxisch, gewebsspezifisch, jedoch nicht speziesspezifisch (265,268). Sie besteht in einer kurzzeitigen Hemmung der DNA-Synthese der Granulozytenvorstufen und einer Verlängerung des Zellzyklus ähnlich der Wirkung des "red cell extract" (RCE) auf die Erythropoese. Zielzellen sind die CFU-C und die teilungsfähigen Granuloblasten. Neben normalen Zellen sollen auch hämopoetische Zellen akuter und chronischer Leukämien von Mensch (289, 290,33) und Tier (14,291) auf die Chalonwirkung ansprechen. BOLL et al. und STERRY sehen im Gegensatz dazu lediglich einen Effekt auf normale Zellen und AML-Zellen, nicht jedoch auf CML- und CMol.-Knochenmarkzellen (33,36,320). Auch bei den von BALAZS et al. (10) und HAVEMANN et al. (142) aus Leukozyten extrahierten Inhibitoren könnte es sich um Chalone handeln. Dieses von BALAZS isolierte Dekapeptid wirkt sowohl auf normale als auch auf leukämische Zellen.

Im Gegensatz zu den oben genannten spezifischen Hemmfaktoren der Granulo- und Monopoese beeinflussen die Lipoproteininhibitoren (69,133) das CFU-C-Wachstum nicht spezifisch, sondern hemmen z. B. auch die Proliferation erythropoetischer Zellen (s. S. 10). Sie werden aus normalen und leukämischen menschlichen Seren gewonnen. Von CIA und den Chalonen grenzen sie sich dadurch ab, daß sie nicht diffusibel sind und nicht wie CIA indirekt über Monozyten wirken. Der Serumspiegel solcher Inhibitoren korreliert zwar mit der Anzahl zirkulierender Granulozyten im Blut (9), eine Bedeutung der Lipoproteininhibitoren in vivo konnte jedoch nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Einen Faktor, der spezifisch allein die Monopoese hemmt, fanden VAN WAARDE et al. in der zweiten Phase von Entzündungsreaktionen im Serum von Versuchstieren (332). Dieser sog. "monocytopoiesis inhibitor" (MPI) hat ein Molekulargewicht von ca. 50.000 und hemmt im Tierversuch in vitro die Monoblastenproliferation.

In vivo senkt er dementsprechend die Monozytenzahl im peripheren Blut.

### 1.3 Besondere Aspekte der humoralen Regulation bei myeloischen Leukämien

Die Regulationsmechanismen bei myeloischen Leukämien zeichnen sich gegenüber Normalfällen grundsätzlich durch drei mögliche Unterschiede aus:

(1) quantitative Änderungen der Konzentration der auch bei Gesunden vorhandenen Regulatoren; (2) qualitative Änderungen der Regulatoren, d. h. Leukämie-spezifischer neuer Substanzen (46,145,200); und (3) Änderung der Empfindlichkeit der Zielzellen von Regulatoren. Den Punkten (1) und (3) scheint nach heutigem Kenntnisstand die größere Bedeutung für die Regulation der leukämischen Myelopoese zuzukommen.

Die Meinungen über quantitative Veränderungen humoraler Regulatoren bei myeloischen Leukämien sind z. T. sehr kontrovers. Allen myeloischen Leukämien gemeinsam ist dagegen eine vermehrte Freisetzung von LIA (57,58,262). Mehrere Autoren beschreiben darüber hinaus eine herabgesetzte bis aufgehobene Abgabe von Inhibitoren (217,221,69). Dies betrifft insbesondere die Freisetzung von Laktoferrin aus reifen Granulozyten bei AML, aber auch bei CML (61,62,49,261, 269,56). Granulozyten von CML-Patienten in Remission haben dagegen normale Hemmwirkung auf menschliches Knochenmark (321).

Über den Gehalt an Stimulatoren existieren ebenfalls sehr unterschiedliche Ansichten. So beschreiben einige Autoren einen erhöhten (199,217,307,104,279), andere dagegen einen erniedrigten Stimulatorengehalt (88,124,217,309) in CML-Seren bzw. CML-Zellen. Bei AML ist die Abgabe von CSA deutlich vermindert bis aufgehoben (19,124,128). HINTERBERGER beschreibt in diesem Zusammenhang auch Unterschiede in der Stimulierbarkeit der CSA-Abgabe von Zellen unterschiedlicher Leukämieformen durch Endotoxin (147). Eine Ausnahme bilden hier die Leukämien mit monozytärer Komponente, deren Fähigkeit zur CSA-Produktion stärker ausgeprägt ist als die der AML-Blasten und z. T. noch über die normaler Zellen hinausgeht (19,124,128,134,144,148,149). CML-Blasten unterscheiden sich von CML-Granulozyten durch die weitgehende Unfähigkeit zur CSA-Abgabe (116, 122,124,128), gelegentlich wurde jedoch auch hier über eine vermehrte CSA-Produktion solcher Zellen berichtet (128,220). Ebenso wurden Veränderungen inhibierender Faktoren im CML-Blastenschub beschrieben (24,217,221,263).

Weitere Differenzen bestehen in der Empfindlichkeit leukämischer Zielzellen für humorale Regulatoren. So beschrieben METCALF und andere Autoren eine erhöhte Empfindlichkeit von AML-Zellen, jedoch eine verminderte Empfindlichkeit von CML-Zellen im Vergleich zu Normalzellen (219,47). FRANCIS et al. fanden im Gegensatz dazu eine normale bis verminderte Empfindlichkeit von AML-Zellen für CSF und eine im Normbereich liegende Empfindlichkeit für CML- und CMoL-Zellen bei Kultivierung in Agar (105,106,108). Auch über Unterschiede in der Empfindlichkeit von Leukämiezellen gegenüber Inhibitoren wie Prostaglandin E (2,267,324) und CIA (62) wurde berichtet.

Auf die Beeinflussung von Knochenmarkszellen durch humorale Faktoren *in vitro*, insbesondere bei myeloproliferativen Erkrankungen, gingen BOLL et al. in einer Studie über Serumfaktoren bei verschiedenen hämatologischen Erkrankungen näher ein (32). Mit Hilfe der Koagulumkulturmethode wurde hier einerseits normales Knochenmark mit Zusatz von Seren an CML und AML erkrankter Patienten inkubiert, andererseits die Regeneration und Reifung leukämischer Knochenmarkszellen bei Zusatz von Seren Gesunder beobachtet.

Die Untersuchungen zur Proliferation von CML-Knochenmarkszellen zeigten eine Normalisierung der *in vivo* erniedrigten Granuloblasten-Mitoseindizes bei Kultivierung im Plasma Gesunder (118,94). Die Reifungsstörung blieb jedoch bestehen. AML-Zellen zeigten im Gegensatz dazu keine Veränderung der Proliferationsparameter durch den Zusatz normaler Seren (32).

In den Seren von Patienten mit behandelter und unbehandelter CML wurde ein Stimulator der Granulopoese nachgewiesen, der den Granuloblasten-Mitoseindex normaler Knochenmarkszellen nach 24-stündiger Inkubation erhöhte, obwohl der Mitoseindex bei CML *in vivo* auf 70 % der Norm erniedrigt war (199, 307,32). Die Aktivität dieses Stimulators wird nach neueren Untersuchungen durch Gefrieren noch verstärkt (230). Dagegen konnte im Serum einer Patientin, die an einer CML im Anfangsstadium erkrankt war, ein solcher Stimulator nicht nachgewiesen werden (17).

Diese Ergebnisse sind nach BOLL et al. auf die Existenz sowohl stimulierender als auch inhibierender Faktoren in CML-Seren zurückzuführen. So wird eine hohe Chalonkonzentration im CML-Serum als Ursache für die Abnahme der Regenerationsaktivität *in vivo* und im autologen Serum angenommen. Der Stimulator in gefroren-aufgetauten CML-Seren wird nach Ansicht der Autoren entweder aus der großen Zahl degenerierter Granulozyten freigesetzt oder muß als Gegenregulator zu der hohen Chalonkonzentration betrachtet werden (32).

## 1.2 Fragestellung

Nach den Untersuchungen von BOLL et al. senkten die Seren zweier Patienten mit AML mit einem in vivo stark erniedrigten Granuloblasten-Mitoseindex auch den Mitoseindex heterologer, normaler Granuloblasten in vitro signifikant (32). Eine noch ausgeprägtere Reduktion des Granuloblasten-Mitoseindex fand FISCHER bei Zusatz von Serum einer CML im Blastenschub, wobei interessanterweise auch der in-vivo-Mitoseindex stärker erniedrigt war als bei den beiden oben zitierten AML-Patienten (101).

Des weiteren beschreiben BOLL und KOEPPEN eine Reihe nicht-leukämischer Erkrankungen, welche in vivo mit einem erhöhten Granuloblasten-Mitoseindex einhergehen (32,35). Durch den Zusatz von Seren dieser Erkrankungen wurde der Mitoseindex heterologer, normaler Granuloblasten signifikant erhöht.

Bei akuten Leukämien muß zwischen solchen mit gegenüber der Norm vermindertem Granuloblasten-Mitoseindex und solchen mit erhöhtem Mitoseindex unterschieden werden (3,43,168,300,302). Dabei liegen über solche mit erniedrigtem Mitoseindex bereits Untersuchungen und Ergebnisse vor (s. o.). Für die vorliegende Arbeit ergab sich daraus in Ergänzung der oben angeführten Untersuchungen die Frage, wie humorale Faktoren in Seren von Patienten mit akuter Leukämie, welche in vivo einen erhöhten Granuloblasten-Mitoseindex haben, die Regeneration und Reifung von normalen Knochenmarkzellen einerseits, und von Blutzellen verschiedener myeloproliferativer Erkrankungen andererseits, beeinflussen. Dabei interessierte insbesondere die Frage, ob auch in diesen Fällen eine Korrelation zwischen dem Mitoseindex des Serumpenders und dem Mitoseindex in vitro besteht. Dazu wurden Seren von zwei Patienten mit AMoL bzw. AMoL, deren Mitoseindices in vivo erhöht waren, in vier Versuchen normalen Knochenmarkzellen zugesetzt. In fünf weiteren Versuchen wurden sie den Blutzellen von Patienten mit CML, CMoL und OMS zugegeben. Regeneration und Reifung wurden erstmalig über einen Zeitraum von 8 bis 10 Tagen beobachtet. Als Vergleich diente der Zusatz von autologem Serum in gleicher Konzentration.

## 2 Material und Methode

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Leukämie-Seren

Als Zusatz zu den Knochenmark- und Blutkulturen dienten die Seren von zwei Patienten, die an akuter myelo-monozytärer bzw. monozytärer Leukämie erkrankt waren. Beide Patienten zeigten in ihren Sternalpunktaten einen über der Norm liegenden Erythroblasten- und Granuloblasten-Mitoseindex. Die Seren wurden eingefroren und vor Versuchsbeginn aufgetaut. Das Serum des Spenders A (Gefrierdauer: 6 Monate; Temp.:  $-20^{\circ}\text{C}$ ) wurde für die Versuche I, II, VI - IX verwendet, das des Spenders B (Gefrierdauer: 1 Monat; Temp.:  $-20^{\circ}\text{C}$ ) für die Versuche III, IV und V.

Serumspender A: Richard B., 77 Jahre

Diagnose: Akute myelo-monozytäre Leukämie seit 2 Monaten

Knochenmarkbefund:

Ausstrich: zellreich, fettarm; große und kleine Retikulumzellen normal, Alpha-NA-Esterase diffus positiv; Plasmazellen normal; Plasmoblasten, Lymphoblasten und Gewebsmastzellen kommen nicht vor.

|               |      |          |       |          |
|---------------|------|----------|-------|----------|
| Granulopoese: | Mbl* | : 12,2 % | Stab. | : 8,8 %  |
|               | Prom | : 27,1 % | Seg.  | : 7,2 %  |
|               | My   | : 4,0 %  | PMo   | : 19,1 % |
|               | MM   | : 4,6 %  | Mo    | : 16,5 % |

Mitoseindex: 29,1 %, vorwiegend Promyelozyten- und Promonozyten-Mitosen; POX und PAS gut positiv, Alpha-NA-Esterase granulär positiv.

|               |     |          |    |         |
|---------------|-----|----------|----|---------|
| Erythropoese: | PE. | : 10,4 % | oE | : 0,9 % |
|               | bE  | : 19,6 % | rE | : 7,1 % |
|               | pE  | : 62,0 % |    |         |

Mitoseindex: 38,2 %, G/E-Index mit 4,6 fast normal; Megaloblastoide kommen vor, Erythroblasten nicht PAS pos., Fe-Speicherung in Retikulumzellen reichlich; Sideroblasten, Ringsideroblasten und Siderozyten fehlen.

Thrombopoese: Megakaryozyten vermindert, PAS gut positiv.

---

\* Zeichenerklärung s. S. 27, 28

Blutbild am Tag der

|                      |                 |                                |         |      |
|----------------------|-----------------|--------------------------------|---------|------|
| <u>Blutentnahme:</u> | Leukozyten      | $29,8 \times 10^3/\mu\text{l}$ | Baso    | 1 %  |
|                      | Erythrozyten    | $3,05 \times 10^6/\mu\text{l}$ | Eos     | 2 %  |
|                      | Thrombozyten    | $29 \times 10^3/\mu\text{l}$   | Prom    | 9 %  |
|                      | Retikulozyten   | 22 %                           | My      | 1 %  |
|                      | Hb              | 8,3 g/100 ml                   | MM      | 2 %  |
|                      | Hb <sub>E</sub> | 26,6 pg                        | Stab    | 4 %  |
|                      | Hkt             | 23,6 %                         | Seg     | 12 % |
|                      |                 |                                | Ly      | 13 % |
|                      |                 |                                | Mo      | 11 % |
|                      |                 |                                | Blasten | 45 % |

Medikation zur Zeit

der Blutentnahme: Novodigal<sup>R</sup> 2 x 1 Tbl/die  
vorher keine Zytostatika

Serumspender B: Joachim B., 50 Jahre

Diagnose: Akute Monoblasten-Leukämie seit 1 Woche

Knochenmarkbefund:

Ausstrich: zellreich, phagozytierende Retikulumzellen vermindert;  
Lymphozyten normal, PAS normal; Plasmazellen vermehrt.

Granulopoese: Blasten 88,5 % Stab 0,2 %  
Prom 7,6 % Seg 0,3 %  
My 0,5 % PMo 2,2 %  
MM 0,2 % Mo 0,6 %

Granulopoese stark vermindert, Mitoseindex: 20,1 %, fast ausschließlich Blastenmitosen; POX ganz vereinzelt pos., PAS 100 % neg., Alpha-NA-Esterase > 5 % pos..

Erythropoese: PE 9,8 % oE 9,1 %  
bE 20,1 % rE 8,6 %  
pE 52,4 %

Erythropoese stark vermindert, aber G/E-Index mit 5,6 nur wenig erhöht, Megaloblastoide kommen vor; Mitoseindex: 53,1 %..

Thrombopoese: Megakaryozyten vermindert, PAS gut pos. .

# Blutbild am Tag der

|                      |                 |                                 |         |      |
|----------------------|-----------------|---------------------------------|---------|------|
| <u>Blutentnahme:</u> | Leukozyten      | $1,775 \times 10^3/\mu\text{l}$ | Eos     | 1 %  |
|                      | Erythrozyten    | $3,12 \times 10^6/\mu\text{l}$  | Seg     | 8 %  |
|                      | Thrombozyten    | $43 \times 10^3/\mu\text{l}$    | Ly      | 68 % |
|                      | Retikulozyten   | $43,7 \times 10^3/\mu\text{l}$  | Mo      | 13 % |
|                      | Hb              | 8,7 g/100 ml                    | Blasten | 10 % |
|                      | Hb <sub>E</sub> | 26,7 pg                         |         |      |
|                      | Hkt             | 27,2 %                          |         |      |

# Medikation zur Zeit

der Blutentnahme: Clamoxyl<sup>R</sup> 3 x 2 g/die  
vorher keine Zytostatika

## 2.1.2 Autologe Seren

Zur Herstellung der autologen Seren wurde den nüchternen Knochenmark- bzw. Blutspendern venöses Blut entnommen. Die Seren wurden eingefroren (Gefrierdauer: 4 h, Temp.: -20 °C) und nach dem Auftauen den jeweiligen Ansätzen zugegeben.

## 2.1.3 Knochenmarkzellen

Für die Versuche I - IV wurden Knochenmarkszellen von 4 Patienten mit normalem Knochenmarkbefund verwendet, die durch Sternalpunktion gewonnen wurden. Die klinischen Daten der Knochenmarkspender sind nachfolgend zusammengestellt:

### Versuch I: Knochenmark der Patientin H. G., 72 Jahre

Diagnosen: tiefe Beinvenenthrombose  
Cholezystolithiasis  
Epilepsie

Knochenmarkbefund: normales Knochenmark

# Blutbild am Tag der

|                         |                 |                                |      |      |
|-------------------------|-----------------|--------------------------------|------|------|
| <u>Sternalpunktion:</u> | Leukozyten      | $10,9 \times 10^3/\mu\text{l}$ | Baso | 1 %  |
|                         | Erythrozyten    | $3,7 \times 10^6/\mu\text{l}$  | Eos  | 1 %  |
|                         | Thrombozyten    | $502 \times 10^3/\mu\text{l}$  | Seg  | 67 % |
|                         | Hb              | 11,3 g/100 ml                  | Ly   | 26 % |
|                         | Hb <sub>E</sub> | 30,7 pg                        | Mo   | 1 %  |
|                         |                 |                                |      |      |

Versuch II: Knochenmark des Patienten K. M., 52 Jahre

Diagnose: Hypertonie

Knochenmarkbefund: normales Knochenmark

Blutbild am Tag der

Sternalpunktion:

|                 |                                |      |      |
|-----------------|--------------------------------|------|------|
| Leukozyten      | $10,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ | Eos  | 3 %  |
| Erythrozyten    | $4,76 \times 10^6/\mu\text{l}$ | Stab | 2 %  |
| Thrombozyten    | $238 \times 10^3/\mu\text{l}$  | Seg  | 68 % |
| Hb              | 14,4 g/100 ml                  | Ly   | 24 % |
| Hb <sub>E</sub> | 30,3 pg                        | Mo   | 3 %  |

BSG: 81/120 mm n. W.

Medikation vor der Sternalpunktion:

|                       |               |
|-----------------------|---------------|
| Dytide H <sup>R</sup> | 1 x 1 Tbl/die |
| Adumbran <sup>R</sup> | 1 x 1 Tbl/die |

Versuch III: Knochenmark des Patienten G. S., 51 Jahre

Diagnose: Hypertonie

Knochenmarkbefund: angeregte Erythropoese bei Fe-Mangel, kein Anhalt für Sideroachresie, Granulopoese leicht linksverschoben.

Blutbild am Tag der

Sternalpunktion:

|                 |                                |      |      |
|-----------------|--------------------------------|------|------|
| Leukozyten      | $10 \times 10^3/\mu\text{l}$   | Baso | 1 %  |
| Erythrozyten    | $5,76 \times 10^6/\mu\text{l}$ | Eos  | 1 %  |
| Thrombozyten    | $198 \times 10^3/\mu\text{l}$  | Stab | 2 %  |
| Retikulozyten   | $75 \times 10^3/\mu\text{l}$   | Seg  | 53 % |
| Hb              | 13,0 g/100 ml                  | Ly   | 32 % |
| Hb <sub>E</sub> | 21,5 pg                        | Mo   | 11 % |

BSG: 5/15 mm n. W.

Medikation vor der

Sternalpunktion:

|                        |               |
|------------------------|---------------|
| Adumbran <sup>R</sup>  | 1 x 1 Tbl/die |
| Novodigal <sup>R</sup> | 2 x 1 Tbl/die |
| Modenol <sup>R</sup>   | 3 x 1 Tbl/die |
| Ce Ferro <sup>R</sup>  | 2 x 1 Drg/die |

Versuch IV: Knochenmark der Patientin H. A., 53 Jahre

Diagnosen: Hypokaliämie bei Diarrhoe  
normochrome Anämie

Knochenmarkbefund: normales Knochenmark

Blutbild am Tag der

|                  |                 |                               |      |      |
|------------------|-----------------|-------------------------------|------|------|
| Sternalpunktion: | Leukozyten      | $3,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ | Eos  | 3 %  |
|                  | Erythrozyten    | $3,1 \times 10^6/\mu\text{l}$ | Stab | 7 %  |
|                  | Thrombozyten    | $121 \times 10^3/\mu\text{l}$ | Seg  | 37 % |
|                  | Hb              | 10,6 g/100 ml                 | Ly   | 44 % |
|                  | Hb <sub>E</sub> | 33,1 pg                       | Mo   | 9 %  |

BSG: 40/80 mm n. W.

Medikation vor der

Sternalpunktion: Kalinor<sup>R</sup> 2 x 1 Tbl/die  
Heparin 3 x 5000 E/die s.c.  
Lanitop<sup>R</sup> 2 x 1 Tbl/die

2.1.4 Blutzellen

Für die Versuche V - IX wurde venöses Blut von 5 Patienten mit myeloproliferativen Erkrankungen (3 CML, 1 CMoL, 1 OMS) verwendet.

Die klinischen Daten der Blutspender sind nachfolgend zusammengestellt:

Versuch V: CML-Zellen des Patienten H. A., 63 Jahre

Diagnosen: Ph<sub>1</sub>-positive, chronisch-myeloische Leukämie  
Hyperlipidämie

Knochenmarkbefund: Granulopoese vermehrt und linksverschoben, vermehrt  
Eosinophile

Blutbild am Tag der

|               |              |                                |      |      |
|---------------|--------------|--------------------------------|------|------|
| Blutentnahme: | Leukozyten   | $103 \times 10^3/\mu\text{l}$  | Baso | 2 %  |
|               | Erythrozyten | $4,96 \times 10^6/\mu\text{l}$ | Eos  | 2 %  |
|               | Thrombozyten | $239 \times 10^3/\mu\text{l}$  | Mbl  | 1 %  |
|               | Hb           | 15.7 g/100 ml                  | Prom | 12 % |

|                    |         |      |      |
|--------------------|---------|------|------|
| Hb <sub>E</sub>    | 30,6 pg | My   | 23 % |
|                    |         | MM   | 9 %  |
|                    |         | Stab | 24 % |
|                    |         | Seg  | 21 % |
|                    |         | Ly   | 4 %  |
|                    |         | PMo  | 2 %  |
| ALP:               | 16      |      |      |
| Medikation vor der |         |      |      |
| Blutentnahme:      | keine   |      |      |

Versuch VI: CML-Zellen der Patientin H. N., 62 Jahre

Diagnose: Ph<sub>1</sub>-negative, chronisch-myeloische Leukämie  
 Knochenmarkbefund: Granulopoese vermehrt und linksverschoben; Erythropoese stark vermindert, Fe-Speicherung; keine Megakaryozyten.

Blutbild am Tag der

|               |                 |                            |      |      |
|---------------|-----------------|----------------------------|------|------|
| Blutentnahme: | Leukozyten      | 218 x 10 <sup>3</sup> /μl  | Mbl  | 2 %  |
|               | Erythrozyten    | 2,16 x 10 <sup>6</sup> /μl | Prom | 9 %  |
|               | Thrombozyten    | 41 x 10 <sup>3</sup> /μl   | My   | 24 % |
|               | Hb              | 6,7 g/100 ml               | MM   | 15 % |
|               | Hb <sub>E</sub> | 29,4 pg                    | Stab | 11 % |
|               |                 |                            | Seg  | 22 % |
|               |                 |                            | Ly   | 1 %  |
|               |                 |                            | PMo  | 12 % |
|               |                 |                            | Mo   | 3 %  |
|               |                 |                            | AMZ  | 1 %  |

|                    |                      |                                          |  |
|--------------------|----------------------|------------------------------------------|--|
| ALP:               | 0                    |                                          |  |
| Medikation vor der |                      |                                          |  |
| Blutentnahme:      | Urbason <sup>R</sup> | 100 - 30 mg/die in abnehmender Dosierung |  |
|                    | Erythrozyten-        |                                          |  |
|                    | sediment             | 2 x 250 ml/Wo                            |  |

Versuch VII: CML-Zellen des Patienten N. M., 57 Jahre

Diagnose:  $Ph_1$ -positive, chronisch-myeloische Leukämie

Knochenmarkbefund: Granulopoese vermehrt und linksverschoben; Erythropoese vermindert, nicht verschoben, normoblastisch; Megakaryozyten in allen Reifungsstufen.

Blutbild am Tag der

|               |                 |                          |      |      |
|---------------|-----------------|--------------------------|------|------|
| Blutentnahme: | Leukozyten      | $7,0 \times 10^3/\mu l$  | Baso | 5 %  |
|               | Erythrozyten    | $5,22 \times 10^6/\mu l$ | Eos  | 1 %  |
|               | Thrombozyten    | $143 \times 10^3/\mu l$  | Prom | 6 %  |
|               | Hb              | 17,1 g/100 ml            | My   | 7 %  |
|               | Hb <sub>E</sub> | 32,1 pg                  | MM   | 6 %  |
|               |                 |                          | Stab | 8 %  |
|               |                 |                          | Seg  | 51 % |
|               |                 |                          | Mo   | 6 %  |
|               |                 |                          | Ly   | 10 % |

ALP: 0

Medikation vor der

Blutentnahme: Myleran<sup>R</sup> 5 x 2 mg/Wo

Versuch VIII: OMS-Zellen des Patienten H. B., 67 Jahre

Diagnosen: Osteomyelosklerose  
Hypertonie  
Arterielle Durchblutungsstörungen

Blutbild am Tag der

|               |                 |                          |      |      |
|---------------|-----------------|--------------------------|------|------|
| Blutentnahme: | Leukozyten      | $28,6 \times 10^3/\mu l$ | Eos  | 3 %  |
|               | Erythrozyten    | $3,49 \times 10^6/\mu l$ | Prom | 2 %  |
|               | Thrombozyten    | $1242 \times 10^3/\mu l$ | My   | 5 %  |
|               | Retikulozyten   | $42 \times 10^3/\mu l$   | MM   | 2 %  |
|               | Hb              | 10,1 g/100 ml            | Stab | 11 % |
|               | Hb <sub>E</sub> | 27,5 pg                  | Seg  | 56 % |
|               |                 |                          | PMo  | 1 %  |
|               |                 |                          | Mo   | 9 %  |
|               |                 |                          | Ly   | 11 % |

ALP: 182

Medikation vor der

Blutentnahme: Sali-Presinol<sup>R</sup> 2 x 1 Tbl/die  
Maycor ret.<sup>R</sup> 3 x 2 Tbl/die  
Lanacor<sup>R</sup> 1 x 1 1/2 Tbl/die  
Hydergin<sup>R</sup> 3 x 40 gtt/die

Versuch IX: CMoL-Zellen des Patienten J. D., 72 Jahre

Diagnosen: Chronische Monozytenleukämie  
Chronischer Harnwegsinfekt  
Niereninsuffizienz  
Normochrome Anämie  
Hyperurikämie

Knochenmarkbefund: starke Vermehrung von Monoblasten, Promonozyten und  
Monozyten; starke Verminderung der restlichen Hämatopoese.

Blutbild am Tag der

|               |                 |                                |      |      |
|---------------|-----------------|--------------------------------|------|------|
| Blutentnahme: | Leukozyten      | $69 \times 10^3/\mu\text{l}$   | Baso | 1 %  |
|               | Erythrozyten    | $2,32 \times 10^6/\mu\text{l}$ | Ly   | 4 %  |
|               | Thrombozyten    | $56 \times 10^3/\mu\text{l}$   | Prom | 8 %  |
|               | Hb              | 7,3 g/100 ml                   | My   | 5 %  |
|               | Hb <sub>E</sub> | 31,1 pg                        | MM   | 3 %  |
|               |                 |                                | Stab | 4 %  |
|               |                 |                                | Seg  | 19 % |
|               |                 |                                | PMo  | 2 %  |
|               |                 |                                | Mo   | 54 % |

Medikation vor der

Blutentnahme: Novodigal<sup>R</sup> 1 x 1 Tbl/die  
Isoket<sup>R</sup> 2 x 20 mg/die  
VP 16<sup>R</sup> 1 Trinkamp./die  
Fortral<sup>R</sup> 3 x 1 Kps/die

## 2.2 Methode

### 2.2.1 Ansatz der Knochenmarkkulturen

Der Ansatz der Knochenmark-Suspensionskulturen erfolgte nach der von BOLL et al. 1975 entwickelten Technik (38).

Die durch Sternalpunktion gewonnenen Markbröckchen wurden in Heparin-haltige Hank's Lösung\* (5 - 10 E/ml) aspiriert und in RPMI-Medium 1640\*\* mit Zusatz von 200 mg% Glucose gegeben. Mit Hilfe mehrmaliger Passagen durch Kanülen abnehmenden Durchmessers wurden die Knochenmarkpartikel homogenisiert und standen im Anschluß daran für die folgenden Ansätze zur Verfügung:

Eigenserum-Ansatz (Es-Ansatz): Ansatz = 3 ml, verdünnt auf 2000 Zellen/ $\mu$ l

Eigenserum-Ansatz: Ansatz = 3 ml, verdünnt auf 2000 Zellen/ $\mu$ l

1. 1,8 ml Zellsuspension in RPMI mit 200 mg% Glucose
2. 1,2 ml Eigenserum (  $\approx$  40 %)
3. 11,6  $\mu$ g Ampicillin/ml Zellsuspension  
2,4  $\mu$ g Streptomycin/ml Zellsuspension

MoL-S-Ansatz: Ansatz = 3 ml, verdünnt auf 2000 Zellen/ $\mu$ l

1. 1,8 ml Zellsuspension in RPMI mit 200 mg% Glucose
2. 1,2 ml MoL-Serum (  $\approx$  40 %)
3. wie oben

Um Verunreinigungen der Kulturansätze durch Probeentnahmen zu vermeiden, wurden beide Ansätze getrennt auf so viele sterile 1,5-ml-Eppendorf-Gefäße aus Kunststoff verteilt, daß pro Stichtag und Kulturansatz ein Gefäß zur Verfügung stand. Die Gefäße wurden luftdicht verschlossen, hatten aber über dem Flüssigkeitsspiegel eine ausreichend große Gasphase, so daß die O<sub>2</sub>-Versorgung der Zellen sichergestellt war. Die Inkubation erfolgte im Wärmeschrank bei 37 °C. Nach 1, 3, 5, 8 und 10 Tagen wurde je ein Gefäß mit Eigenserum- und mit MoL-Serum-Ansatz entnommen und die absolute Zahl der kernhaltigen Zellen pro  $\mu$ l in der Schilling-Zählkammer bestimmt. Von diesen Stichproben wurden mit Hilfe einer Zytocentrifuge (500 U/min, 5 min) jeweils 3 Ausstriche angefertigt und nach Pappenheim gefärbt. Die 0-Tage-Präparate wurden durch Zentrifugieren eines Teils der reinen RPMI-Zellsuspension vor dem Serumzusatz angefertigt.

---

\* Difco Laboratories, Detroit, Michigan 48232, USA

\*\* Gibco-Bio-Cult, 3 Washington Road, Paisley PA3 4EP, Scotland

### 2.2.2 Ansatz der Blutkulturen

Zur Sedimentation der Erythrozyten wurde das heparinisierte Blut (20 ml) des Blutspenders mit Macrodex<sup>R</sup> 6 % im Verhältnis 4 : 1 versetzt. Nach einer Stunde wurde der Überstand abpipettiert und in RPMI-Medium gegeben. Die so erhaltene Zellsuspension wurde auf eine Konzentration von 2000 Zellen/ $\mu$ l eingestellt und diente zum Ansatz der Kulturen. Das weitere Vorgehen entsprach dem bei den Knochenmarkkulturen beschriebenen.

### 2.2.3 Klassifikation und Auswertung

Von jeder Stichprobe wurden nach den von BOLL (30,37,43) beschriebenen Kriterien 2000 Zellen (bei den Blutkulturen 1000 Zellen) und die dazugehörigen Mitosen differenziert. An Hand der Differentialzählungen und der Gesamtzellzahlen konnte somit die absolute Zahl jeder Zellklasse an den einzelnen Stichtagen ermittelt werden. Damit bot sich die Möglichkeit, Regeneration und Reifung der Zellen direkt zu verfolgen.

Nach BOLL wurden unterschieden:

#### 1. in der Erythropoese

- Proerythroblasten ( PE )
- basophile Erythroblasten ( bE )
- polychromatische Erythroblasten ( pE )
- oxyphile Erythroblasten ( oE )
- reife Erythroblasten ( rE )

#### 2. in der Granulopoese

- Myeloblasten ( Mb1 )
- Promyelozyten ( Prom )
- neutrophile Myelozyten ( My )
- eosinophile Myelozyten ( eoMy )
- basophile Myelozyten ( baMy )
- Metamyelozyten ( MM )
- stabkernige Granulozyten ( Stab )
- neutrophile segmentkernige Granulozyten( Seg )
- eosinophile segmentkernige Granulozyten( eoSeg )
- basophile segmentkernige Granulozyten ( baSeg )
- Promonozyten ( PMo )
- Monozyten ( Mo )

### 3. bei den übrigen Zellen

- Lymphoblasten
- Lymphozyten ( Ly )
- Plasmoblasten, Plasmazellen
- Megakaryoblasten, -zyten
- Mastzellen
- Makrophagen ( Mak )
- große, kleine und phagozytierende  
Retikulumzellen

Als teilungsfähig gelten dabei nach BOLL in der Erythropoese alle Zellen mit Ausnahme der reifen Erythroblasten. In der Granulopoese werden die Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten, Metamyelozyten und Promonozyten als teilungsfähig angesehen.

Folgende Mitosephasen wurden unterschieden:

- Prophase ( P )
- frühe Metaphase ( fM )
- späte Metaphase ( sM )
- Anaphase ( A )
- Telophase ( T )
- Rekonstruktionsphase ( R )

Ausgewertet wurden die Ergebnisse der insgesamt 254 Präparate, entsprechend ca. 133.000 Zellen, mit Hilfe der:

1. Reifungskurven: Sie zeigen die aus Gesamtzellzahlen und Differentialzählungen ermittelten absoluten Zahlen der verschiedenen Reifungsstufen in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer. Hierbei erfolgte die Auftragung der Zellzahlen additiv und getrennt für die Erythropoese, die Granulopoese und die Makrophagen. Zusätzlich zu den absoluten Zahlen wurde entsprechend auch die prozentuale Verteilung dieser Zellen dargestellt.
2. Reifungsindices nach Bock (23): Sie werden als Kriterium für den Grad der Ausreifung herangezogen und geben das Verhältnis von teilungsfähigen zu nicht-teilungsfähigen Zellen (s. o.) an. Daraus ergibt sich, daß hohe Werte eine Ausreifungshemmung und niedrige Werte eine Ausreifungsförderung anzeigen. Die Indicesbildung erfolgte für die Zellen der Granulopoese ebenso wie für die Zellen der Erythropoese.

3. Mitoseindices: Sie geben die Anzahl der Mitosen pro 1000 teilungsfähiger Zellen an. Erythroblasten- und Granuloblasten-Mitoseindices wurden getrennt dargestellt.
4. Mo/G-Indices: Sie geben das Zahlenverhältnis aller monozytären Zellen einschließlich der Makrophagen zur Granulopoese an.
5. G/E-Indices: Sie geben das Zahlenverhältnis von Granulopoese zu Erythropoese an.
6. Mittelwerte: Aus den Summen der Einzelwerte, die den oben genannten Reifungskurven und Indices (1. - 5.) zugrunde liegen, wurden die jeweiligen Mittelwerte neu berechnet und graphisch dargestellt.
7. Karyologische Kurven: Sie stellen die prozentuale Verteilung der Mitosephasen (s. S. 28) getrennt für Erythropoese und Granulopoese dar. Die 0-Tage-Präparate wurden dabei nicht berücksichtigt.
8. Zellmorphologie: Es wurde auf pathologische Mitosen, Zytoplasmavakuolen, zweikernige Zellen, Kerndegenerationen und Zeichen von Zytotoxizität geachtet.

### 2.2.3 Statistik

Unterschiede in den Mitoseindices und der Differentialverteilung der Zellen zwischen den Ansätzen mit Eigenserumzusatz und MoL-Serum-Zusatz wurden mit Hilfe des  $\chi^2$ -Kontingenztests nach PEARSON und der Kontinuitätskorrektur nach YATES überprüft (155). Dieser Test vergleicht eine beobachtete Häufigkeitsverteilung mit einer theoretisch erwarteten. Er dient der Überprüfung der Nullhypothese, die besagt, daß Test- und Kontrollgruppe derselben Grundgesamtheit entstammen, Unterschiede zwischen beiden Gruppen also zufallsbedingt sind. Dabei ist das Prüfmaß  $\chi^2$  ein Maß für die Größe der Abweichung und wird nach folgender Formel aus der "Zwei-mal-zwei-Felder-Tafel" berechnet:

$$\chi^2 = \sum \frac{(B - E)^2}{E}$$

B = Beobachtungswert

E = Erwartungswert

Aus dem so errechneten Wert für  $\chi^2$  ergibt sich unter Berücksichtigung der Zahl der Freiheitsgrade n (hier:  $n = 1$ ,  $\hat{=}$  Vergleich zweier Werte) der Wert p. p ist das Maß für die Wahrscheinlichkeit, daß die verglichenen Werte aus derselben Population stammen ( $p = 0,05$  heißt, daß der Unterschied mit 5 %-iger Wahrscheinlichkeit zufallsbedingt ist).

Die errechneten  $\chi^2$ -Werte sind in den Tabellen 8 -15 und 19 - 26 im Anhang zu finden, die dazugehörenden p-Werte wurden einer mathematischen Tafel (151) entnommen.

Für die ermittelten p-Werte gilt in dieser Arbeit:

|                    |                         |
|--------------------|-------------------------|
| $p > 0,05$         | nicht signifikant       |
| $0,05 < p > 0,01$  | zweifelhaft signifikant |
| $0,01 < p > 0,001$ | signifikant             |
| $p < 0,001$        | hochsignifikant         |

### Rechenbeispiel:

Nach Es-Zusatz entfielen nach 24 h auf 3025 teilungsfähige Zellen 57 Mitosen, nach MoL-S-Zusatz wurden dagegen 96 Mitosen bei 2806 teilungsfähigen Zellen gezählt.

|     | $B_M$ | $B_{M+N}$ | $B_N$ | $E_N$  | $E_M$ | B-E               | (B-E)          | $\frac{(B-E)^2}{E}$ | $\chi^2$ | p      |
|-----|-------|-----------|-------|--------|-------|-------------------|----------------|---------------------|----------|--------|
| Es  | 57    | 3025      | 2968  | 2945,6 | 79,4  | M -22,4<br>N 22,4 | 501,8<br>501,8 | 6,32<br>0,17        | 13,49    | 0,0003 |
| MoL | 96    | 2806      | 2710  | 2732,4 | 73,6  | M 22,4<br>N -22,4 | 501,8<br>501,8 | 6,82<br>0,18        |          |        |

$$E_M = \frac{B_M(\text{Es}) + B_M(\text{MoL})}{B_{M+N}(\text{Es}) + B_{M+N}(\text{MoL})} \times B_{M+N}(\text{Es}) \text{ bzw. } B_{M+N}(\text{MoL}) = \frac{(57 + 96) \times 3025}{3025 + 2806} = 79,4$$

$$\text{bzw. } = \frac{(57 + 96) \times 2806}{3025 + 2806} = 73,6$$

$$\chi^2 = \sum \frac{(B - E)^2}{E} = 6,32 + 0,17 + 6,82 + 0,18 = 13,49$$

$B_M$  = beobachtete Mitosen

$E_N$  = Erwartungswert Nicht-Mitosen =

$B_N$  = beobachtete Nicht-Mitosen =  $B_{M+N} - B_M$

$B_{N+N} - E_M$

$B_{M+N}$  = beobachtete teilungsfähige Zellen

N = Nicht-Mitosen

$E_M$  = Erwartungswert der Mitosen

M = Mitosen

Dem Wert  $\chi^2 = 13,49$  entspricht bei  $n = 1$  ein  $p = 0,0003$ .

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Zellmorphologie

In den Versuchen mit Knochenmarkzellen (Versuchsreihe I) werden morphologische Veränderungen bei Zusatz von autologem Serum nahezu vollständig vermißt. Im Gegensatz dazu sind in den Kulturen mit MoL-S-Zusatz dieser Versuchsreihe während der ersten Hälfte der Inkubationszeit von 10 Tagen nur vereinzelt, am 8. und 10. Tag dagegen gehäuft Zeichen der Zelldegeneration zu beobachten:

##### In der Granulopoese

- degenerierte Zellen, insbesondere segmentkernige Granulozyten und einige Myelozyten
- Promyelozyten und Myelozyten mit toxischer Granulation
- Lockerung der Kernstrukturen
- Riesenformen der Metamyelozyten, stabkernigen und segmentkernigen Granulozyten

##### In der Erythropoese

- Kernabsprengungen
- Auftreten zweikerniger Erythroblasten (pE, oE und rE)
- megaloblastär veränderte Kerne

Die Veränderungen in der Erythropoese sind im Vergleich zu denen der Granulopoese insgesamt weniger häufig zu beobachten.

Die Versuche mit Blutzellen gleichen in ihrer Zellmorphologie den Versuchen mit Knochenmarkzellen. Lediglich in den Versuchen VII und VIII treten die oben beschriebenen Veränderungen der granulopoetischen Zellen gehäuft auf und sind, im Gegensatz zur Versuchsreihe I, auch bei autologem Serumzusatz zu beobachten.

## 3.2 Versuchsreihe I (Knochenmarkkulturen)

### 3.2.1 Versuch I: Normales Knochenmark

Zusatz: AMMoL-Serum (Spender I)

#### Reifungskurven der Erythropoese (Abb. 1.1, 1.2, S. 34)

Nach Es-Zusatz zeigt sich am 1. Tag ein Anstieg der Gesamtzellzahl zugunsten der reiferen teilungsfähigen (pE+oE) und der reifen Erythroblasten, gefolgt von einer starken Tendenz zur Ausreifung mit der Konsequenz einer drastischen absoluten und relativen Verminderung der teilungsfähigen sowie einer Zunahme der reifen Erythroblasten. Einen weiteren auffälligen Befund stellt der erneute Anstieg der Gesamtzellzahl zugunsten der reifen Erythroblasten am 8. Tag dar, dem allerdings am 10. Tag eine Degeneration der Kultur folgt.

Unter AMMoL-S-Zusatz ist die absolute und relative Zunahme der Teilungsfähigen am 1. Tag noch auffälliger, wobei Proerythroblasten und basophile Erythroblasten betroffen sind. Im Gegensatz dazu ist bei den reifen Erythroblasten eine absolute wie relative Abnahme zu beobachten. Im weiteren Verlauf liegt die Zahl der Teilungsfähigen, bis auf den 8. Tag, immer höher als unter Es-Zusatz, die Zahl der reifen Erythroblasten ist dagegen am 3. und besonders am 8. Tag vermindert. Die Differentialverteilung zeigt die Verminderung der reifen Erythroblasten im gesamten Kulturverlauf, ebenso wie eine relative Verminderung der Proerythroblasten und der basophilen Erythroblasten am 3. Tag. Die Erythroblasten-Reifungsindices (Ebl-RI) sind entsprechend an allen Tagen erhöht.

#### Erythroblasten-Mitoseindices (Abb. 1.3, Tab. 1, S. 35, 146)

Der Erythroblasten-Mitoseindex steigt im Eigenserum bis zum 3. Tag auf das Doppelte des Ausgangswertes an, um dann bis zum 5. Tag auf Null abzusinken.

Bei Zusatz von AMMoL-Serum sind dagegen bis zum 8. Tag Mitosen zu beobachten. Der Ebl-Mitoseindex liegt im gesamten Verlauf weit über den Werten bei autologem Serumzusatz.

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 1.4, 1.5, S. 36)

Die Zahl der Granuloblasten nimmt bei Es-Zusatz, abgesehen von einem geringen Rückgang am 3. Tag, bis zum 8. Tag zu, was in der Gruppe der Granulozyten lediglich bis zum 5. Tag zu verzeichnen ist. Die starke Verminderung beider Zellgruppen am 10. Tag zeigt eine Degeneration der Kultur an. Die Gruppe der

monozytären Zellen (PMo+Mo) nimmt, nach anfänglichem Rückgang, in der zweiten Hälfte der Inkubationszeit sowohl absolut als auch relativ deutlich zu.

Durch den AMMoL-S-Zusatz ist verglichen mit Es-Zusatz eine Vermehrung der Granuloblasten und Granulozyten nur am 1. - 3. Tag festzustellen. Wie die Differentialverteilung zeigt, erfolgt sie hauptsächlich zugunsten der Promyelozyten und Myelozyten. Der weitere Verlauf weist eine stetige Verminderung der Granuloblasten- und Granulozytenzahlen auf. Entsprechend sind die Reifungsindices in der 1. Hälfte der Inkubationszeit erhöht, danach jedoch erniedrigt. Ähnlich treten auch monozytäre Zellen (PMo+Mo) nach AMMoL-S-Zusatz zunächst vermehrt, in der 2. Hälfte der Kulturzeit dagegen vermindert auf.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Abb. 1.6, Tab. 2, 2.1, S. 37, 146)

Nach anfänglich steilem Anstieg des Granuloblasten-Mitoseindex im Eigenserum sinkt dieser Wert im weiteren Verlauf ab, wobei er am 10. Tag den Wert Null erreicht.

Der Zusatz von AMMoL-Serum bewirkt im Laufe des 1. Tages einen ähnlich starken Anstieg des Mitoseindex wie der Zusatz von Eigenserum. Im Gegensatz zum Ansatz mit Eigenserum bleibt dieser Wert jedoch bis zum Ende der Kulturdauer unverändert.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 1.7, 1.8, S. 38)

Abgesehen von einem leichten Rückgang am 5. Tag nimmt die Zahl der Makrophagen im gesamten Verlauf stetig zu. In der 2. Hälfte der Inkubationszeit ist ihre absolute und relative Vermehrung erwartungsgemäß besonders ausgeprägt.

Während durch den AMMoL-S-Zusatz ihre Zahl anfangs ansteigt, liegt sie gegen Ende der Kulturzeit sowohl absolut als auch prozentual niedriger als unter Es-Zusatz. Insgesamt werden 3 Mitosen gezählt.

#### G/E-Indices (Tab. 7, S. 148)

Der G/E-Index des 0-Stunden-Präparates ist mit 1,7 leicht erniedrigt (30). Mit zunehmender Kulturdauer steigt er in beiden Ansätzen an und liegt bei Es-Zusatz mit Ausnahme des 8. Tages immer höher als bei AMMoL-S-Zusatz.

# Reifungskurven Versuch I

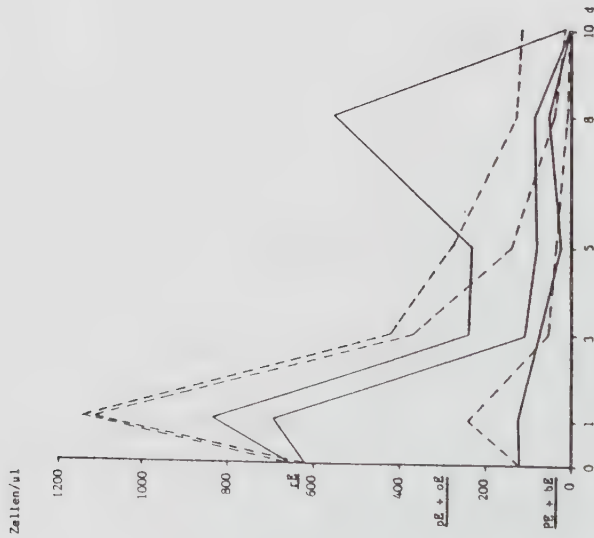


Abb. 1.1: Erythropoese (abs. Werte)

|            | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|------------|---|------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz  |   | 4,98 | 0,84 | 0,53 | 0,18 | 0,13 |
| Amol-S-Zus |   | 61,0 | 6,70 | 0,98 | 0,41 | 0,14 |

O-h-Wert: 19,4

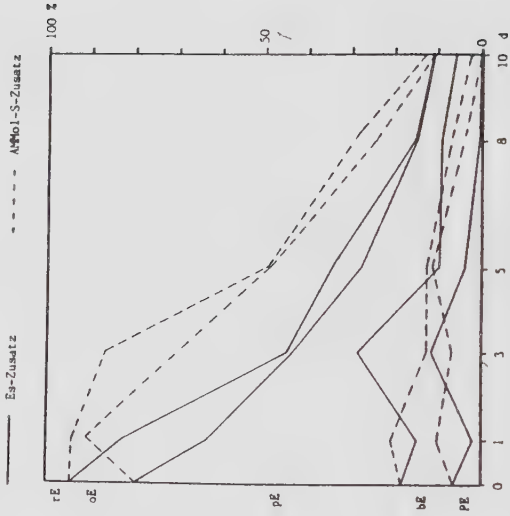


Abb. 1.2: Erythropoese (%-Verteilung)  
Zeichenerklärung s. S. 5, 27, 28

Mitoseindices Versuch I

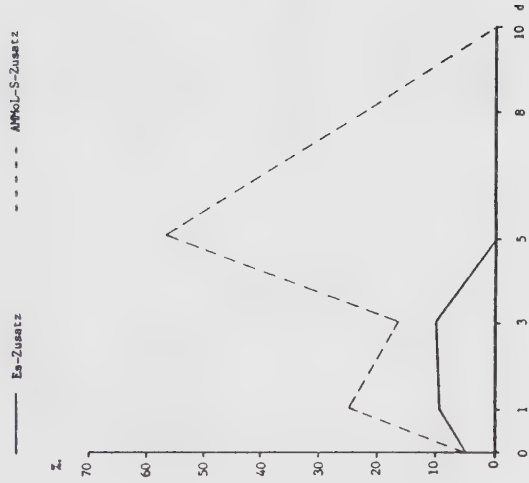


Abb. 1.3: Erythropoese

# Reifungskurven Versuch I

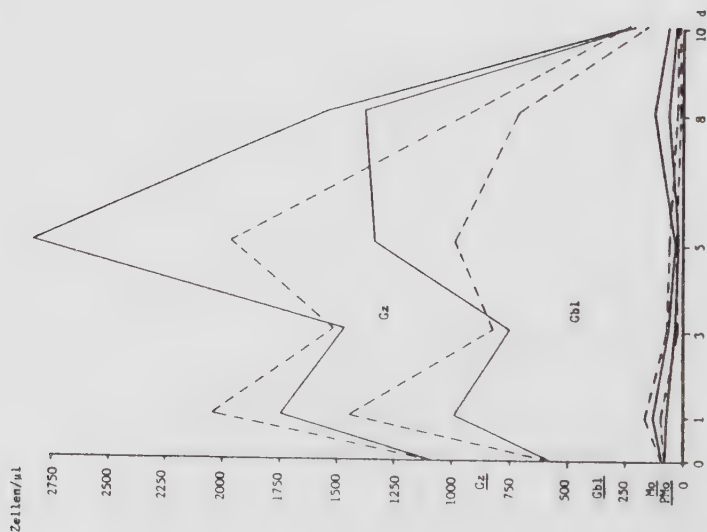


Abb. 1.4: Granulopoese (abs. Werte)

| Gal-Rt      | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|-------------|---|------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz   |   | 1,13 | 0,97 | 0,87 | 5,77 | 3,07 |
| AMHOL-S-Zus |   | 2,03 | 1,04 | 0,95 | 3,30 | 1,47 |

O-h-Wert: 1,03

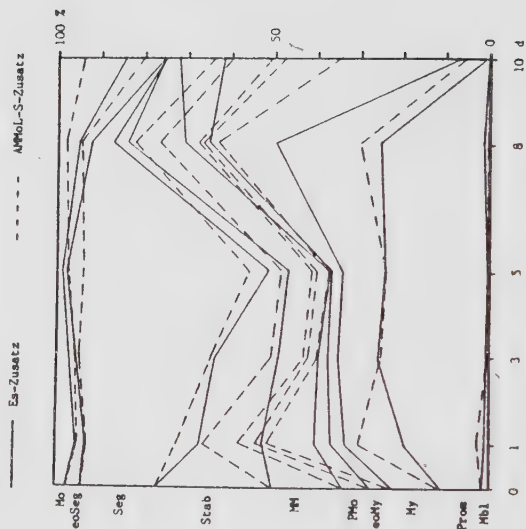


Abb. 1.5: Granulopoese (%-Verteilung)

# Mitoseindices Versuch I

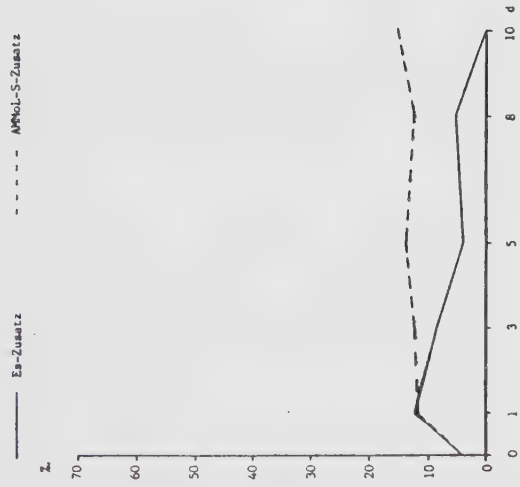


Abb. 1.6: Granulopoese

# Reifungskurven Versuch I

- 38 -

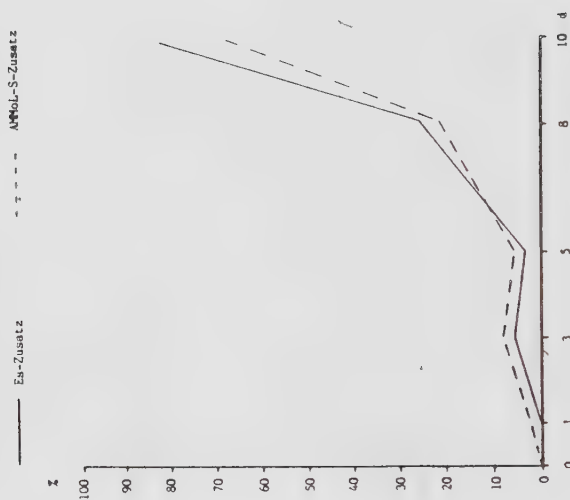


Abb. 1.8: Makrophagen (%-Verteilung)



Abb. 1.7: Makrophagen (abs. Werte)

3.2.2 Versuch II: Normales Knochenmark  
Zusatz: AMMoL-Serum (Spender I)

Reifungskurven der Erythropoese (Abb. 2.1, 2.2, S. 41)

Die Reifungskurven zeigen bei Es-Zusatz, nach anfänglicher Zunahme der teilungsfähigen (pE+oE) und der reifen Erythroblastenzahlen, am 3. Tag eine deutliche Tendenz zur Ausreifung mit einer begleitenden absoluten Verminderung der unreifen, aber auch der reifen Zellformen. Vom 5. Tag an sind keine teilungsfähigen und nur noch wenige reife Erythroblasten zu sehen.

Durch AMMoL-S-Zusatz zeigen sich am 1. Tag deutlich verminderte Werte in allen Zellgruppen. Dagegen sind vom 3. Tag an, insbesondere in der Gruppe der Teilungsfähigen, deutlich höhere Zellzahlen als bei Es-Zusatz zu beobachten. Nach der Differentialverteilung ist dies auf eine Verminderung der stark teilungsfähigen Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten zurückzuführen. Der Ebl-Reifungsindex ist an allen Tagen, besonders vom 5. Tag an, erhöht.

Erythroblasten-Mitoseindices (Abb. 2.3, Tab. 1, S. 42, 146)

Der Ebl-Mitoseindex zeigt bei Es-Zusatz nach anfänglich starkem Rückgang einen deutlichen Anstieg am 3. Tag. Vom 5. Tag an finden sich dann keine Mitosen mehr.

Der Mitoseindex liegt bei AMMoL-S-Zusatz mit Ausnahme des 3. Tages im gesamten zeitlichen Verlauf deutlich höher als bei Es-Zusatz und erreicht hier erst am 10. Tag den Wert Null.

Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 2.4, 2.5, S. 43)

Die absolute Granuloblastenzahl zeigt nach Es-Zusatz bei anfänglich leichter Vermehrung am 5. Tag eine zunächst starke, dann nur noch leichte Verminderung. Die Anzahl der Granulozyten, besonders der Stabkernigen, nimmt dagegen am 1. Tag zunächst deutlich ab, um dann bis zum 5. Tag insbesondere zugunsten der Segmentkernigen (Abb. 2.5) mäßig anzusteigen. In der 2. Hälfte der Kulturzeit bleiben Granulozyten- und Granuloblastenzahlen nahezu konstant. Die relativen und absoluten Werte der monozytären Zellen (PMo+Mo) nehmen im Laufe des 1. Tages erheblich ab, zeigen jedoch am 3. Tag einen mäßigen Anstieg, insbesondere zugunsten der Promonozyten (Abb. 2.5). Im weiteren Verlauf bleibt die absolute Zahl der Monozyten ungefähr konstant, während Promonozyten vom 5. Tag an praktisch nicht mehr zu finden sind.

Der Zusatz von AMMoL-Serum führt zu einem deutlichen Rückgang der Gesamtzellzahl (Abb. 2.4) am 1. Tag, besonders zu Lasten der Stabkernigen (Abb. 2.5).

Infolge dessen ist auch der Gbl-Reifungsindex am 1. Tag erhöht (Abb. 2.5). Am 5. und 8. Tag sind die absoluten Zahlen sowohl der Granuloblasten als auch der Granulozyten erheblich erhöht, so daß die Gesamtzellzahl ca. 100 % über der bei Es-Zusatz liegt. Die Differentialverteilung zeigt in diesem Zeitraum nur geringe Unterschiede im Vergleich beider Ansätze. Gegen Ende der Kulturzeit sind die Granuloblasten bei AMMoL-S-Zusatz absolut und relativ vermindert, der Granulozytenanteil dagegen bei gleichen Absolutwerten erhöht. Die monozytären Zellen (PMo+Mo) sind an allen Tagen, mit Ausnahme des 3. Tages, sowohl absolut als auch relativ vermehrt, mit einem Maximum am 1. Tag.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Abb. 2.6, Tab. 2, 2.1, S. 44, 146)

Der Gbl-Mitoseindex zeigt bei Es-Zusatz einen zweigipfligen Verlauf mit einem den Ausgangswert übertreffenden Maximum am 5. und einem den Ausgangswert erneut erreichenden Anstieg am 10. Tag.

Durch den AMMoL-S-Zusatz steigt der Gbl-Mitoseindex bis zum 3. Tag auf 370 % des Wertes im Eigenserum und sinkt im weiteren Verlauf nur wenig ab. Er bleibt dabei an allen Tagen über den Es-Werten und übertrifft selbst am 10. Tag den Ausgangswert noch um ca. 60 %.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 2.7, 2.8, S. 45)

Makrophagen treten hier schon im 0-Stunden-Präparat auf. Bei Es-Zusatz ändert sich ihre Anzahl bis zum 5. Tag zunächst nur wenig, steigt dann aber am 8. und 10. Tag kräftig an.

AMMoL-S-Zusatz führt am 5. und 10. Tag im Vergleich dazu sowohl absolut als auch relativ zu einem noch deutlicheren Anstieg der Makrophagenzahlen. Insgesamt werden 2 Mitosen beobachtet.

#### G/E-Indices (Tab. 7, S. 148)

Der G/E-Index sinkt in beiden Versuchsansätzen nach 24 Stunden leicht ab, zeigt dann aber vom 3. Tag an im Eigenserum einen wesentlich stärkeren Anstieg als bei AMMoL-S-Zusatz.

Reifungskurven Versuch II

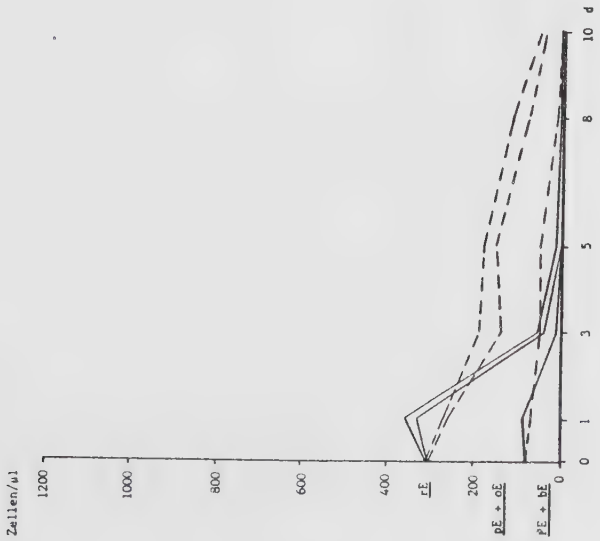


Abb. 2.1: Erythropoese (abs. Werte)

| Dil-Rt      | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|-------------|---|------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz   |   | 12,5 | 2,11 | 0,03 | 0,27 | 0,40 |
| AMol-S-Zus. |   | 25,9 | 2,61 | 5,25 | 2,08 | 3,27 |

0-h-Wert: 100

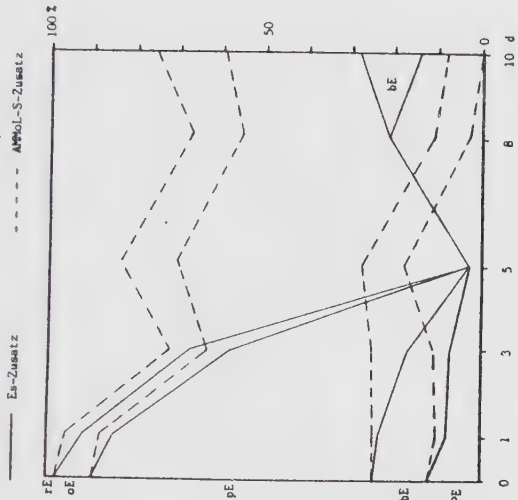


Abb. 2.2: Erythropoese (%-Verteilung)

Mitoseindices Versuch II

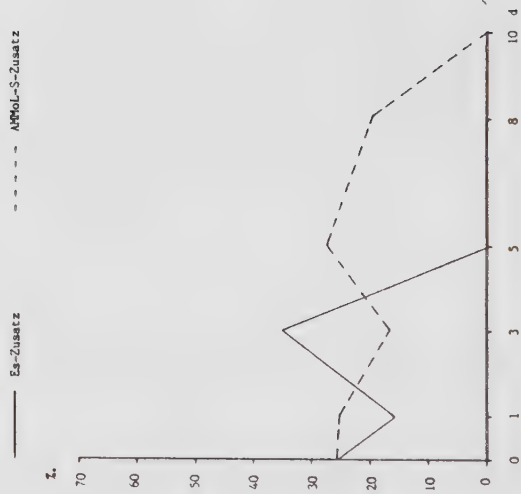


Abb. 2.3: Erythropoese

# Reifungskurven Versuch II

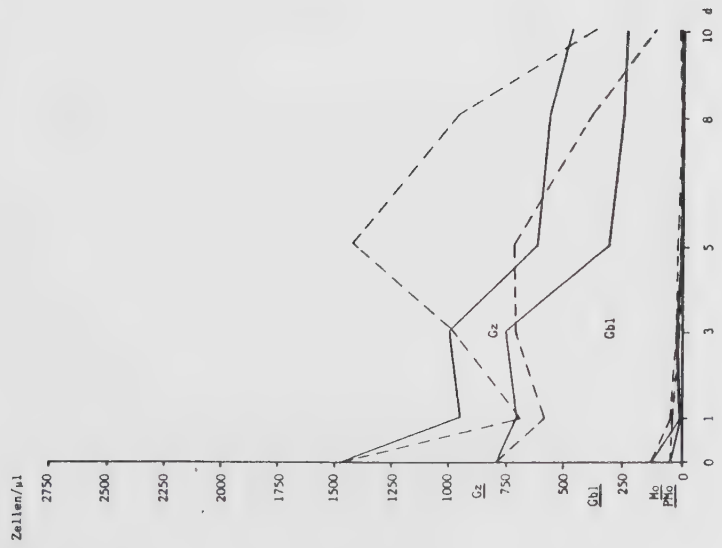


Abb. 2.4: Granulopoese (abs. Werte)

| Cell           | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|----------------|---|------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz      |   | 2,70 | 3,04 | 0,96 | 0,77 | 1,00 |
| AMMoL-S-Zusatz |   | 4,70 | 2,47 | 0,97 | 0,66 | 0,47 |
| O-h-Wert       |   | 0,93 |      |      |      |      |

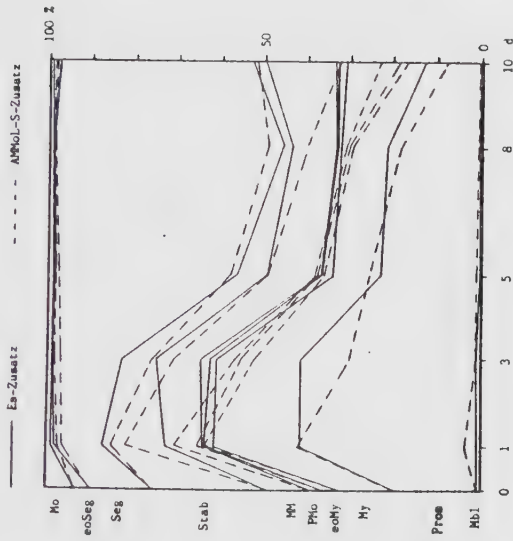


Abb. 2.5: Granulopoese (%-Verteilung)

# Mitoseindizes Versuch II

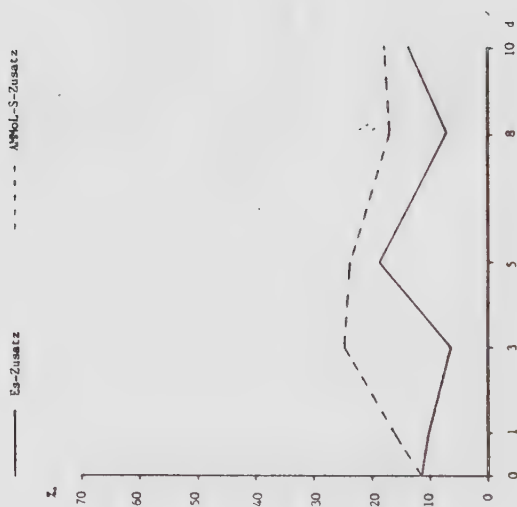


Abb. 2.6: Granulopoese

## Reifungskurven Versuch II

- 45 -

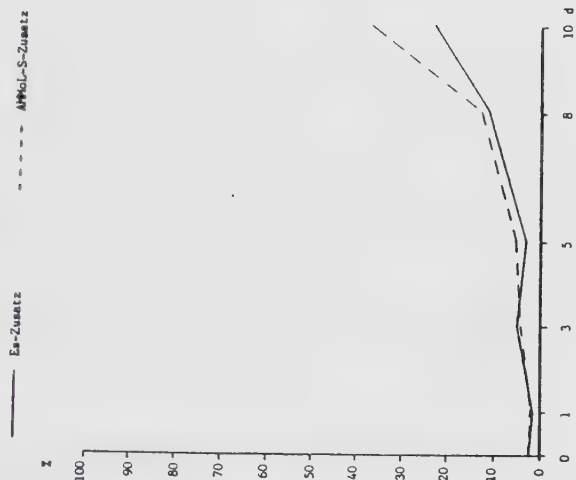


Abb. 2.8: Makrophagen (%-Verteilung)



Abb. 2.7: Makrophagen (abs. Werte)

### 3.2.3 Versuch III: Angeregte Erythropoese bei Fe-Mangel, normale Granulopoese

Zusatz: AMoL-Serum (Spender II)

#### Reifungskurven der Erythropoese (Abb. 3.1, 3.2, S. 48)

Unter Es-Zusatz zeigt sich am 1. Tag eine zunächst nur geringe, später dann deutlichere Abnahme der Gesamtzellzahl. Sie erfolgt anfangs zu Lasten der reifen Erythroblasten bei absoluter und relativer Vermehrung der unreiferen teilungsfähigen Erythroblasten (PE u. bE). Später erfolgt im Gegensatz dazu die Abnahme sowohl absolut als auch relativ zu Lasten der teilungsfähigen, bei nur geringfügiger absoluter Zunahme der reifen Erythroblasten.

Durch den Zusatz von AMoL-Serum ist der Anstieg der Gesamtzellzahl, besonders der teilungsfähigen Erythroblasten, zunehmend deutlicher. Der Absolutwert der reifen Erythroblasten bleibt dagegen nahezu unbeeinflusst, während ihr relativer Anteil an der Erythropoese vom 3. Tag an vermindert ist. Entsprechend werden durch den AMoL-S-Zusatz die Erythroblasten-Reifungsindices zunächst kaum verändert, sie liegen jedoch vom 3. Tag an deutlich über den Werten bei Es-Zusatz.

#### Erythroblasten-Mitoseindices (Abb. 3.3, Tab. 1, S. 49, 146)

Der Ebl-Mitoseindex sinkt bei Es-Zusatz bis zum 3. Tag nur leicht, später dagegen stärker ab und erreicht am 8. Tag den Wert Null.

Bei AMoL-S-Zusatz zeigt sich am 1. Tag ein deutlicheres Absinken, dem aber ein kräftiger Anstieg des Mitoseindex am 5. Tag folgt. Selbst am 10. Tag wird der Ausgangswert noch um 20 % übertroffen.

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 3.4, 3.5, S. 50)

Nach anfänglicher Verminderung übersteigt die absolute Zahl granulopoetischer Zellen bis zum 5. Tag deutlich den Ausgangswert. Dies ist auf die Vermehrung der Granuloblastenzahlen am 3. Tag und eine anschließende Zunahme der Granulozytenzahl am 5. Tag zurückzuführen. Dieser starken Zellvermehrung geht am 1. Tag ein deutlicher Anstieg des Promyelozytenanteils an der Granulopoese voraus (Abb. 3.5). Im weiteren Verlauf gehen die Granulozyten- und Granuloblastenzahlen zunächst zurück. Am 10. Kulturtag fällt dann eine erneute Vermehrung der Granuloblasten und eine mäßige Zunahme der Granulozytenzahl auf. Dem entspricht ein erneuter Anstieg des Promyelozytenanteils in der Differentialverteilung sowie eine Abnahme des Granulozytenanteils mit daraus folgendem Anstieg

des Gbl-Reifungsindex. Der absolute und relative Wert der monozytären Zellen (PMo+Mo) bleibt nach Es-Zusatz, abgesehen von einem Rückgang am 1. und 8. Tag, während der gesamten Inkubationsdauer nahezu konstant.

Nach AMoL-S-Zusatz ist die absolute Zahl sowohl der Granuloblasten als auch der Granulozyten, mit Ausnahme des 5. bzw. 1. und 5. Tages, stets vermindert. Die Differentialverteilung (Abb. 3.5) zeigt ebenso eine Verminderung der Granuloblasten, besonders der Promyelozyten, jedoch dabei eine entsprechende Vermehrung des Granulozytenanteils, die jeweils zu Beginn und Ende der Kulturzeit hervortritt. Die Gruppe der monozytären Zellen (PMo+Mo) zeigt durch den AMoL-S-Zusatz am 1. Tag eine absolute und relative, am 5. Tag lediglich eine absolute Zunahme der Zellzahl. Am Ende der Inkubationszeit dagegen ist ihre Zahl im Vergleich zum Es-Zusatz sowohl absolut als auch relativ deutlich vermindert.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Abb. 3.6, Tab. 2, 2.1, S. 51, 146)

Der Gbl-Mitoseindex steigt bei Es-Zusatz während der ersten 5 Tage deutlich an, zeigt aber am 8. Tag einen deutlichen Rückgang. Am 10. Tag wird der Ausgangswert fast wieder erreicht.

Durch den AMoL-S-Zusatz steigt der Gbl-Mitoseindex bis zum 3. Tag auf 220 % des Kontrollwertes an. An den folgenden Tagen nimmt die Zahl der Mitosen zwar ab, sie liegt aber immer noch beträchtlich über den Werten im Eigenserum.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 3.7, 3.8, S. 52)

Schon im 0-Stunden-Präparat findet sich eine geringe Zahl von Makrophagen. Sie steigt bei Es-Zusatz bis zum 3. Tag deutlich an, um dann bis zum Ende der Inkubation nahezu konstant zu bleiben.

Der AMoL-S-Zusatz führt lediglich am 5. Tag zu einer deutlichen Vermehrung der Makrophagenzahl, während ihr Anteil an der Gesamtzellzahl vom 5. - 10. Tag stetig erhöht ist. Eine Mitose wird beobachtet.

#### G/E-Indices (Tab. 7, S. 148)

Der G/E-Index des 0-Stunden-Präparates liegt mit einem Wert von 1,3 deutlich unterhalb der Norm. Er sinkt im Eigenserum am 1. Tag kaum, bei AMoL-S-Zusatz dagegen deutlich ab. Danach zeigt sich im AMoL-Serum mit Ausnahme des 10. Tages ein schwächerer Anstieg als nach Es-Zusatz.

# Reifungskurven Versuch III

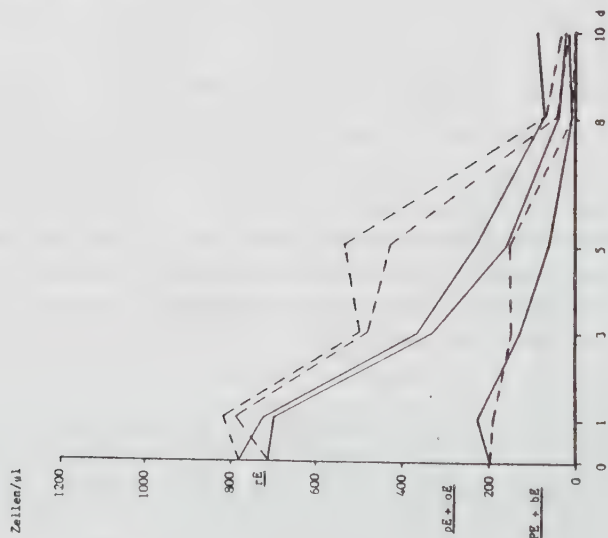


Abb. 3.1: Erythropoese (abs. Werte)

| Zeit-Rt    | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|------------|---|------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz  |   | 28,9 | 8,94 | 2,30 | 1,09 | 0,29 |
| Mol-S-Zus. |   | 27,3 | 23,7 | 4,08 | 1,33 | 0,71 |

O-h-Wert: 10,8

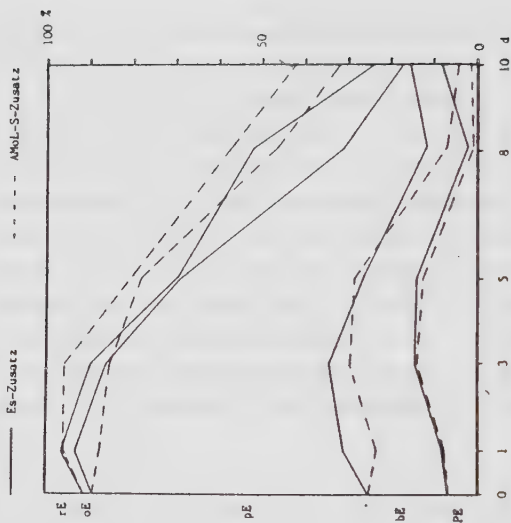


Abb. 3.2: Erythropoese (%-Verteilung)

Mitoseindices Versuch III

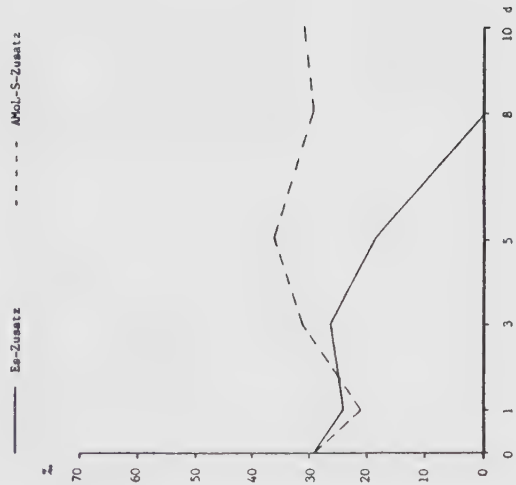


Abb. 3.3: Erythropoese

# Reifungskurven Versuch III

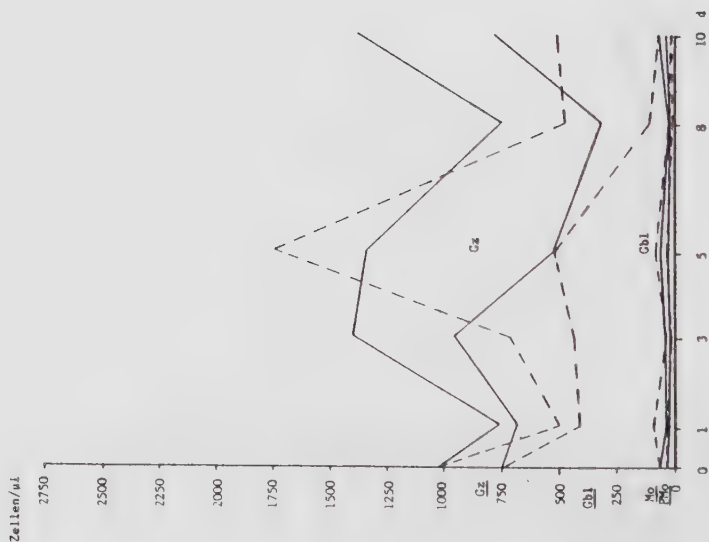


Abb. 3.4: Granulopoese (abs. Werte)

| Gbl- $\mu\text{l}$ | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|--------------------|---|------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz          |   | 7,33 | 1,98 | 0,59 | 0,69 | 1,18 |
| AMoL-S-Zus.        |   | 2,40 | 1,41 | 0,37 | 0,24 | 0,13 |

O-h-Wert: 2,32

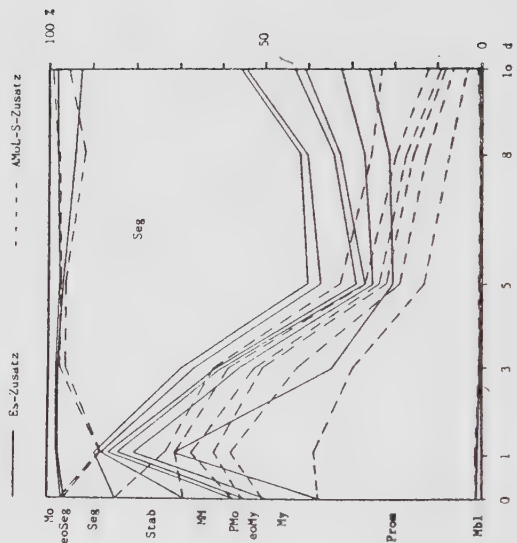


Abb. 3.5: Granulopoese (%-Verteilung)

# Mitoseindices Versuch III

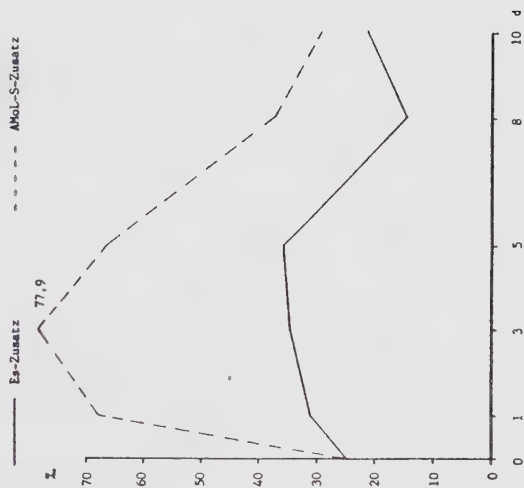


Abb. 3.6: Granulopoese

# Reifungskurven Versuch III

- 52 -



Abb. 3.7: Makrophagen (abs. Werte)

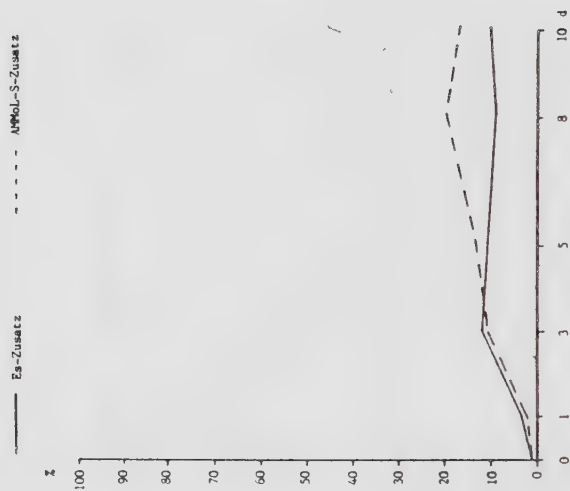


Abb. 3.8: Makrophagen (%-Verteilung)

### 3.2.4 Versuch IV: Normales Knochenmark

Zusatz: AMoL-Serum (Spender II)

#### Reifungskurven der Erythropoese (Abb. 4.1, 4.2, S. 55)

Nach Es-Zusatz zeigt sich am 1. Tag eine 50 %-ige Zunahme der Gesamtzellzahl zugunsten der teilungsfähigen Erythroblasten, bei Verminderung der reifen Erythroblasten. Danach fällt eine zunehmende Ausreifungstendenz (Abb. 4.2) mit absoluter Abnahme vor allem der unreifen Zellformen auf.

Durch den Zusatz von AMoL-Serum kommt es zu einem kräftigen Anstieg der absoluten Erythroblastenzahlen zugunsten der unreifen Zellformen an allen Tagen, mit einem Maximum am 5. Tag. Entsprechend zeigt die Differentialverteilung (Abb. 4.2) in der ersten Hälfte der Inkubationszeit eine deutliche Zunahme des Anteils der besonders teilungsfähigen Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten. Ihr folgt am 5. Tag eine relative Vermehrung der reifen Erythroblasten. Demzufolge ist auch der Ebl-Reifungsindex nach anfänglicher Erhöhung an diesen Tagen im Vergleich zum Es-Zusatz erniedrigt.

#### Erythroblasten-Mitoseindices (Abb. 4.3, Tab. 1, S. 56, 146)

Die Zahl der Mitosen steigt bei Es-Zusatz bis zum 3. Tag stark an. Vom 5. Tag an sind dann keine Mitosen mehr zu beobachten.

Bei AMoL-S-Zusatz bleibt der Ebl-Mitoseindex im gesamten Zeitverlauf etwa in Höhe des Ausgangswertes, so daß er bis zum 3. Tag niedriger, vom 5. Tag an aber höher liegt als der jeweilige Vergleichswert bei Es-Zusatz.

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 4.4, 4.5, S. 57)

Im Eigenserum erreicht die absolute Granuloblastenzahl, nach stetiger Abnahme während der ersten 5 Tage, am 8. Tag wieder den Ausgangswert. Die absolute Zahl der Granulozyten nimmt, nach anfänglich leichtem Rückgang, vom 3. Tag an wieder zu und erreicht am 8. Tag das Doppelte des Ausgangswertes. Beide Gruppen zeigen am 10. Tag eine Verringerung der Zellzahl. Die Differentialverteilung weist, abgesehen von einer anfänglichen Zunahme, einen ähnlichen Verlauf auf. Die Zahl der monozytären Zellen (PMo+Mo) vermehrt sich absolut und relativ am 1. und 8. Tag um bis zu 300 %, jeweils gefolgt von einem deutlichen Rückgang. Diese Vermehrung erfolgt im wesentlichen zugunsten der Promonozyten.

Bei Zusatz von AMoL-Serum übersteigt im Verlauf der ersten 5 Tage die absolute Zahl der Granuloblasten zunehmend deutlicher den entsprechenden Wert

bei Es-Zusatz. Sie nimmt dann aber am 8. und besonders am 10. Tag stark ab. Entsprechend zeigt sich auch in der Differentialverteilung eine Zunahme der stark proliferierenden Promyelozyten am 3. und 5. sowie eine Verminderung des Promyelozyten- und Myelozytenanteils an den folgenden Tagen. Die absolute Granulozytenzahl liegt am 1. und 5. Tag höher, am 3. und 10. Tag dagegen niedriger als bei Es-Zusatz. Die Anzahl der monozytären Zellen (PMo+Mo) nimmt bei AMoL-S-Zusatz am 1. Tag mäßig ab, liegt dann aber im weiteren Verlauf über den Werten bei Es-Zusatz. Die Zunahme erfolgt dabei zugunsten der Promonozyten. In der 2. Hälfte der Kulturzeit nimmt ihre Anzahl im Vergleich wieder leicht ab. Die Granuloblasten-Reifungsindices sind in der 1. Hälfte der Inkubationszeit durch den AMoL-S-Zusatz leicht erhöht, gegen Ende dann, entsprechend der Zunahme des Granulozytenanteils, deutlich erniedrigt.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Abb. 4.6, Tab. 2, 2.2, S. 58, 146)

Die Zahl der Mitosen steigt bei Es-Zusatz bis zum 3. Tag stark an. Vom 5. Tag an sind dann keine Mitosen mehr zu beobachten.

Bei AMoL-S-Zusatz bleibt der Gbl-Mitoseindex im gesamten Zeitverlauf etwa in Höhe des Ausgangswertes, so daß er bis zum 3. Tag niedriger, vom 5. Tag an jedoch höher liegt als der jeweilige Vergleichswert bei Es-Zusatz.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 4.7, 4.8, S. 59)

Nach einer Inkubationsdauer von 24 Stunden sind in beiden Ansätzen die ersten Makrophagen zu beobachten. Ihre Zahl nimmt bei Es-Zusatz bis zum 5. Tag nur leicht zu, steigt dann jedoch gegen Ende der Inkubation kräftig an.

Durch den AMoL-S-Zusatz kommt es am 8. und 10. Tag zu einer Zunahme der absoluten Makrophagenzahl, am 10. Tag dann auch zu einer Erhöhung des Makrophagenanteils an der Gesamtzellzahl. Insgesamt werden 3 Makrophagenmitosen beobachtet.

#### G/E-Indices (Tab. 7, S. 148)

Nach einem deutlichen Absinken des G/E-Index in beiden Ansätzen am 1. Tag läßt sich bei Es-Zusatz im weiteren Verlaufein starker Anstieg feststellen, der nach AMoL-S-Zusatz weniger deutlich ist. Am 10. Tag zeigen beide Ansätze eine leichte Abnahme der G/E-Indices.

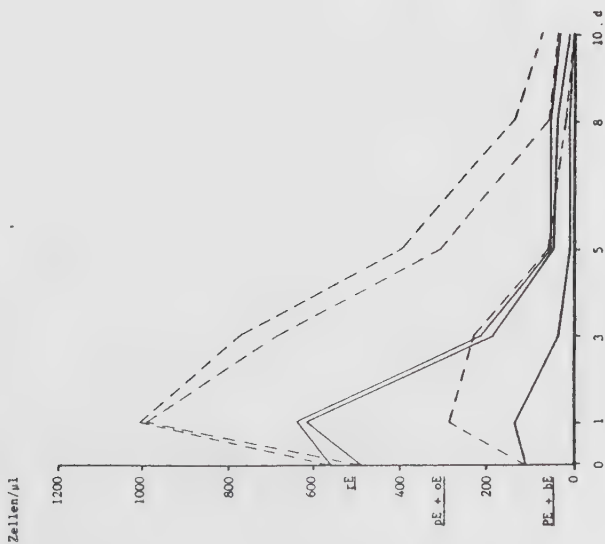


Abb. 4.1: Erythropoese (abs. Werte)

| Bil-R       | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|-------------|---|------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz   |   | 23,4 | 6,82 | 7,00 | 2,17 | 0,53 |
| AMol-S-Zus. |   | 79,8 | 7,91 | 3,28 | 0,69 | 1,02 |

O-h-Wert: 6,87

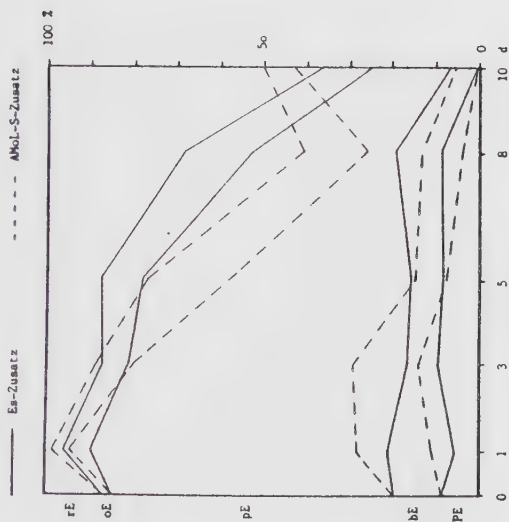


Abb. 4.2: Erythropoese (%-Verteilung)

# Mitoseindices Versuch IV

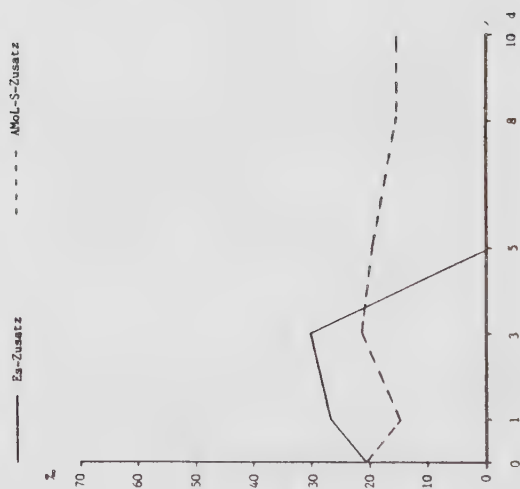


Abb. 4.3: Erythropoese

# Reifungskurven Versuch IV

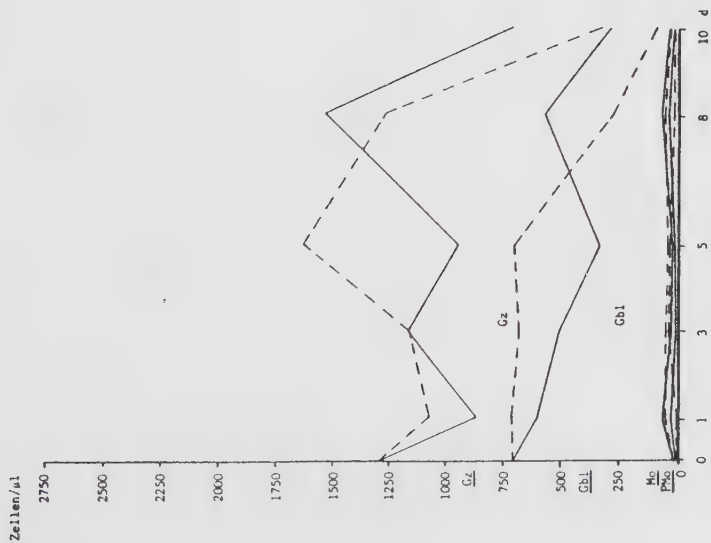


Abb. 4.4: Granulopoese (abs. Werte)

| Zeit       | d | 1    | 3    | 5    | 8    | 10   |
|------------|---|------|------|------|------|------|
| Ex-Zusatz  |   | 1,80 | 0,73 | 0,50 | 0,54 | 0,56 |
| Mol-S-Zus. |   | 1,60 | 1,36 | 0,74 | 0,22 | 0,28 |

O-h-Wert: 1,16

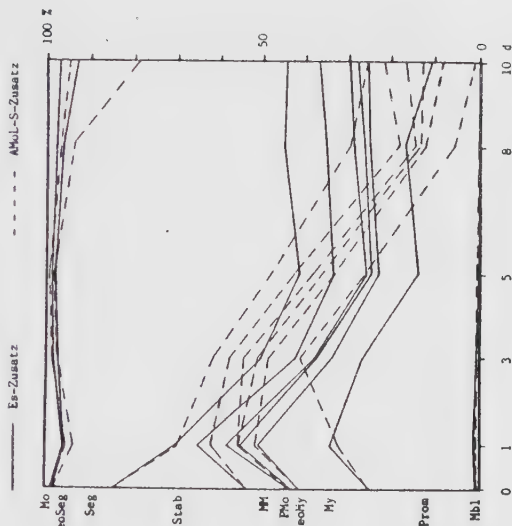


Abb. 4.5: Granulopoese (%-Verteilung)

# Mitoseindices Versuch IV

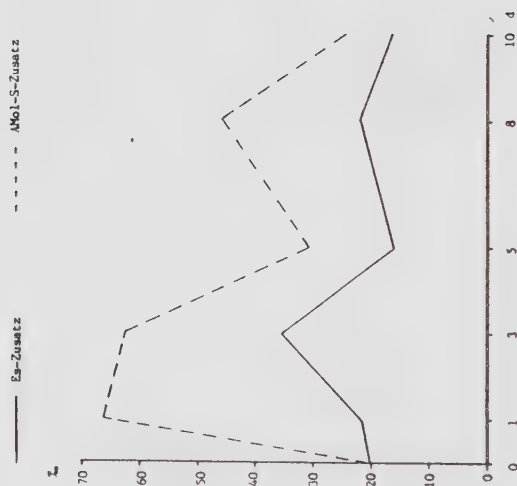


Abb. 4.6: Granulopoese

# Reifungskurven Versuch IV

- 59 -

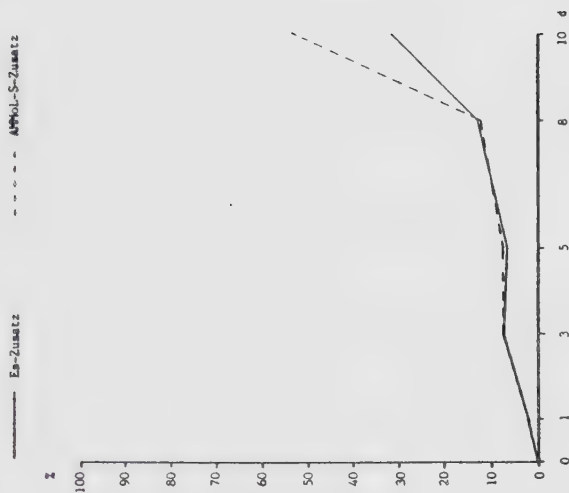


Abb. 4.8: Makrophagen (%-Verteilung)

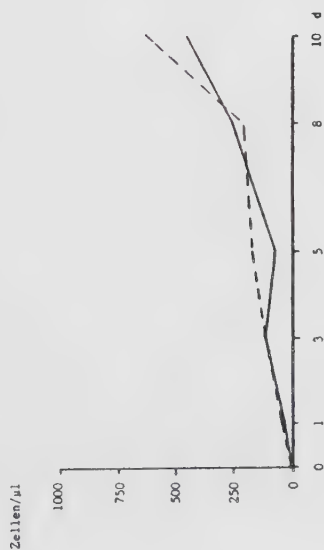


Abb. 4.7: Makrophagen (abs. Werte)

### 3.2.5 Zusammenfassung der Versuchsreihe I (normale Knochenmarkzellen)

#### Mittelwerte: Reifungskurven der Erythropoese (Abb. 5.1 - 5.3, S. 64, 65)

Am 1. Kulturtag ist bei Es-Zusatz ein leichter Anstieg der Gesamtzellzahl zugunsten der teilungsfähigen Erythroblasten mit entsprechender Zunahme in der Differentialverteilung zu beobachten. Dies dokumentiert sich auch in einem leichten Anstieg des Erythroblasten-Reifungsindex (Abb. 5.3). Daran schließt sich eine deutliche Ausreifungstendenz (Abb. 5.3) mit ausgeprägtem absoluten wie relativen Rückgang der teilungsfähigen (besonders pE+oE) und Zunahme der reifen Erythroblasten an (Abb. 5.1, 5.2). Am 8. Tag bewirkt diese Vermehrung der Reifen einen nochmaligen Anstieg der Gesamtzellzahl der Erythroblasten.

Durch den MoL-S-Zusatz kommt es, verglichen mit Es-Zusatz, zu einer ausgeprägten Vermehrung der Anzahl der Teilungsfähigen, besonders der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten, bei Verminderung der reifen Erythroblasten, welche sich auch in der Differentialverteilung zeigt. Im weiteren Verlauf liegen Absolutwert und Anteil teilungsfähiger Erythroblasten, besonders bis zum 5. Tag, wesentlich höher als bei Es-Zusatz, während sich die Zahlen der Reifen mit Ausnahme des 8. Tages annähernd gleichen. Dieser Verlauf wird auch aus den an allen Tagen hochsignifikant erhöhten Erythroblasten-Reifungsindices bei MoL-S-Zusatz ersichtlich, wobei das Maximum der Zunahme am 1. Tag liegt (Abb. 5.3; Tab. 4, 10, S. 65, 147, 150).

#### Mittelwerte: Erythroblasten-Mitoseindices (Abb. 5.4, Tab. 1, S. 66, 146)

Die Mittelwerte der Ebl-Mitoseindices nehmen bei Es-Zusatz bis zum 3. Tag mäßig zu, um dann bis zum 5. Tag steil abzufallen. Am 10. Tag sind keine Mitosen mehr zu beobachten.

Durch den MoL-S-Zusatz zeigt sich während der ersten 3 Tage kein wesentlicher Unterschied. Vom 5. Tag an liegt der Ebl-Mitoseindex dann aber deutlich über den entsprechenden Werten bei Es-Zusatz. Selbst am 10. Tag werden noch ca. 60 % des Ausgangswertes erreicht.

#### Mitosephasenverteilung der Erythroblasten-Mitosen (Abb. 5.5, S. 66)

Den karyologischen Kurven in der Erythropoese liegen bei Es-Zusatz 73 und bei MoL-S-Zusatz 138 Mitosen zugrunde. Zwischen beiden Ansätzen zeigen sich keine wesentlichen Unterschiede in der Verteilung der Mitosephasen.

Mittelwerte: Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 5.6 - 5.8, S. 67, 68)

Die Mittelwerte der Versuche I - IV mit Es-Zusatz zeigen eine leichte absolute Vermehrung der Granuloblasten bis zum 3. Tag, woran sich ein fortschreitender Rückgang ihrer Zahlen mit einer Schulter am 8. Tag anschließt. Die Zahl der Granulozyten zeigt dagegen zunächst einen mäßigen Rückgang, um dann am 5. Tag mit 260 % des Ausgangswertes ein Maximum zu erreichen. Im Anschluß daran geht ihre Zahl wieder langsam zurück.

Die Differentialverteilung weist nach 24 Stunden eine Zunahme der teilungsfähigen Granuloblasten, speziell der Promyelozyten, auf, mit entsprechender Verminderung der Granulozyten zu Lasten der Stabkernigen (Abb. 5.7). Damit steigt der Granuloblasten-Reifungsindex (Abb. 5.8) bis zum 1. Tag auf etwa das Doppelte des Ausgangswertes an. Bis zum 5. Tag zeigt sich dann ein kontinuierlicher Rückgang der Promyelozyten und Myelozyten bei Zunahme der Segmentkernigen, mit daraus resultierendem Absinken des Granuloblasten-Reifungsindex. Der 8. Tag zeigt, entsprechend der Schulter in der Absolutkurve, eine erneute leichte Vermehrung der Promyelozyten und Myelozyten mit anschließender Zunahme der Metamyelozyten. Diesen Verlauf dokumentiert auch der erneute leichte Anstieg des Granuloblasten-Reifungsindex in der 2. Hälfte der Kulturzeit.

Die absolute Zahl der monozytären Zellen (PMo+Mo) steigt, nach einem Rückgang während der ersten 5 Tage, in der zweiten Hälfte des Untersuchungszeitraums fast wieder bis zum Ausgangswert an. Ihr prozentualer Anteil an der Granulopoese übertrifft am 10. Tag sogar den Ausgangswert.

Durch den MoL-S-Zusatz kommt es anfangs zu einer Abnahme der absoluten Granulozyten- und am 3. Tag auch der Granuloblastenzahl. Die absolute Zahl beider Zellgruppen ist am 5. Tag gering vermehrt. In der 2. Hälfte des Inkubationszeitraums nehmen zunächst hauptsächlich die Granuloblasten, später aber auch die Granulozyten deutlich stärker zu als im Eigenserum (Abb. 5.6). Die Differentialverteilung (Abb. 5.7) zeigt hier nach 24 Stunden einen gleichbleibenden Granuloblastenanteil bei relativer Verminderung der Promyelozyten und entsprechender Vermehrung der Myelozyten. In der Gruppe der Granulozyten nehmen die Segmentkernigen zu Lasten der Stabkernigen zu. Im Anschluß ist das Bild der Differentialverteilung und entsprechend auch das der Gbl-Reifungsindices bis zum 5. Tag nahezu identisch. Erst in der zweiten Hälfte der Kulturzeit sinkt bei MoL-S-Zusatz der Promyelozytenanteil, während der Anteil der Segmentkernigen steigt. Dies spiegelt sich auch im hochsignifikanten Rückgang der Granuloblasten-Reifungsindices am 8. und 10. Tag wider (Abb. 5.8; Tab. 5, 11, S. 68, 147, 150).

Die monozytären Zellen (PMo+Mo) zeigen bei MoL-S-Zusatz in der ersten Hälfte der Kulturzeit, speziell am 1. Tag, eine hochsignifikante bis signifikante relative aber auch absolute Vermehrung (Tab. 12, S. 151), entsprechend der verstärkten Regenerationsaktivität der Promonozyten (Tab. 3, S. 147). Dagegen sind sie in der zweiten Hälfte absolut und relativ vermindert.

Mittelwerte: Granuloblasten-Mitoseindices (Abb. 5.9, Tab. 2, 2.1, S. 69, 146)

Der Mittelwert der Granuloblasten-Mitoseindices der Versuche I - IV mit Es-Zusatz sinkt, nach leichtem Anstieg während der ersten 3 Tage, selbst bis zum 10. Tag nur wenig unter den Ausgangswert.

Der MoL-S-Zusatz führt zu einem steilen Anstieg des Mitoseindex bis zum 3. Tag auf mehr als das Doppelte des Wertes bei Es-Zusatz. An den folgenden Tagen nimmt er langsam ab, liegt aber immer über den jeweiligen Vergleichswerten im Eigenserum. Diese Steigerung des Gbl-Mitoseindex durch MoL-S-Zusatz ist an allen Tagen mit Ausnahme des 10. statistisch hochsignifikant bzw. signifikant (Tab. 8, S. 149).

Mitosephasenverteilung der Granuloblasten-Mitosen (Abb. 5.10, S. 69)

In der Granulopoese finden sich bei Zusatz von Eigenserum 232 Mitosen, bei MoL-S-Zusatz 332 Mitosen. Auch hier zeigen sich, wie schon in der Erythropoese, keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Mitosephasen beider Ansätze.

Mittelwerte: Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 5.11, 5.12, S. 70)

In 2 von 4 Versuchen sind Makrophagen schon im 0-Stunden-Präparat zu beobachten. Bei Zusatz von Eigenserum nehmen die Makrophagen bis zum 3. Tag mäßig zu. Nach einem leichten Rückgang ihrer Zahl am 5. Tag folgt am 8. und 10. Tag ein deutlicher Anstieg. Dieser Verlauf betrifft sowohl die absoluten als auch die relativen Werte.

Durch den MoL-S-Zusatz kommt es im Mittel, nach anfänglich ähnlicher Entwicklung, in der zweiten Hälfte der Kulturzeit zur deutlichen Vermehrung der Makrophagen, absolut wie relativ, welche am 5. und 10. Tag statistisch hochsignifikante Werte erreicht (Tab. 13, S. 151).

Mittelwerte: Mo/G-Indices (Abb. 5.13, Tab. 6, S. 71, 148)

Bei Es-Zusatz nehmen die Mo/G-Indices bis zum 3. Kulturtag auf das Doppelte

des Ausgangswertes zu, was auf die Makrophagenvermehrung zurückzuführen ist (Abb. 5.11, 5.12, S. 70). Am 5. Tag fällt der Mo/G-Index, entsprechend der erhöhten Granuloblasten- und Granulozytenzahlen (Abb. 5.6, 5.7, S. 67) und dem Rückgang der absoluten wie relativen Makrophagenzahlen (Abb. 5.11, 5.12), wieder auf den Ausgangswert ab. In der zweiten Hälfte der Kulturzeit steigt er aufgrund der Vermehrung der Makrophagen erneut steil an.

Der MoL-S-Zusatz bewirkt an allen Tagen eine hochsignifikante Vermehrung der monozytären Zellen mit Erhöhung der Mo/G-Indices (Tab. 14, S. 152). Die Vermehrung betrifft in der ersten Hälfte der Kulturzeit vorwiegend die Promonozyten und Monozyten (Abb. 5.6, 5.7, Tab. 12, S. 67, 151), in der zweiten dagegen die Makrophagen (Abb. 5.11, 5.12, Tab. 13, S. 70, 151). Entsprechend ist auch die Regenerationsaktivität der Promonozyten im Vergleich zum Eigenserum, besonders im Verlauf der ersten 5 Tage, erhöht (Tab. 3, S. 147).

#### Mittelwerte: G/E-Indices (Abb. 5.14, Tab. 7, S. 71, 148)

Die Mittelwerte der G/E-Indices der Versuche I - IV nehmen am 1. Tag in beiden Ansätzen leicht ab. Dieser Rückgang wird durch den MoL-S-Zusatz hochsignifikant verstärkt (Tab. 15, S. 152). Der im anschließenden Zeitraum zu beobachtende Anstieg der G/E-Indices ist bei MoL-S-Zusatz deutlich geringer als im Eigenserum, so daß es auch an den folgenden Tagen zu einer hochsignifikanten Verminderung der G/E-Indices kommt (Tab. 15).

# Mittelwerte der Versuche I - IV Reifungskurven

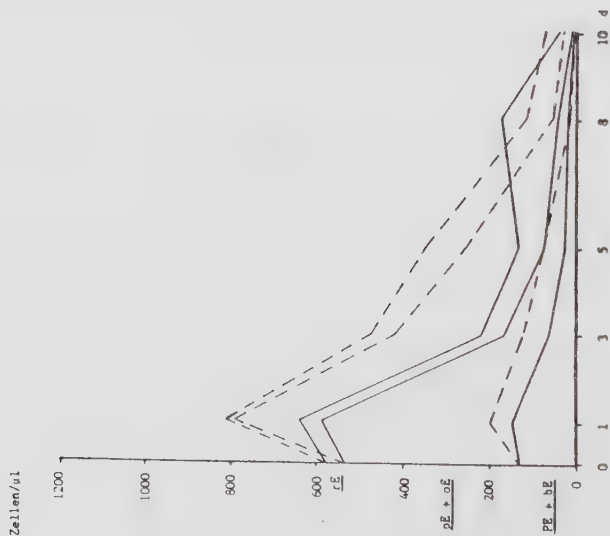


Abb. 5.1: Erythropoese (abs. Werte)

| Zellen | Es-Zusatz |     |      |      |      |     | Mol-S-Zusatz |     |     |     |      |  |
|--------|-----------|-----|------|------|------|-----|--------------|-----|-----|-----|------|--|
|        | 0         | 1   | 3    | 5    | 8    | 10  | 1            | 3   | 5   | 8   | 10   |  |
| re     | 2,5       | 3,1 | 10,3 | 18,8 | 12,6 | 4,8 | 0,6          | 4,9 | 7,8 | 8,4 | 13,2 |  |
| oe     | 3,0       | 3,4 | 1,7  | 2,3  | 3,4  | 2,6 | 1,0          | 1,8 | 4,4 | 2,1 | 3,0  |  |
| pe     | 1,0       | 4,2 | 10,7 | 13,7 | 7,4  | 3,9 | 1,7          | 4,3 | 2,2 | 7,9 | 9,2  |  |
| be     | 1,7       | 2,5 | 3,2  | 2,6  | 2,4  | 1,9 | 1,4          | 7,3 | 3,0 | 1,3 | 1,4  |  |
| te     | 1,2       | 0,9 | 1,5  | 1,5  | 4,8  | 3,4 | 0,7          | 1,7 | 4,6 | 0,7 | 0,3  |  |

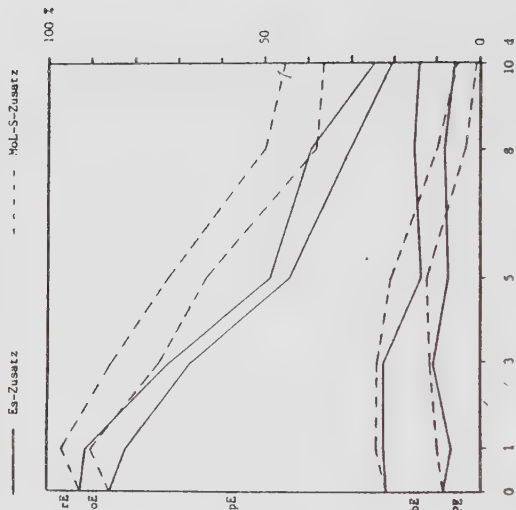
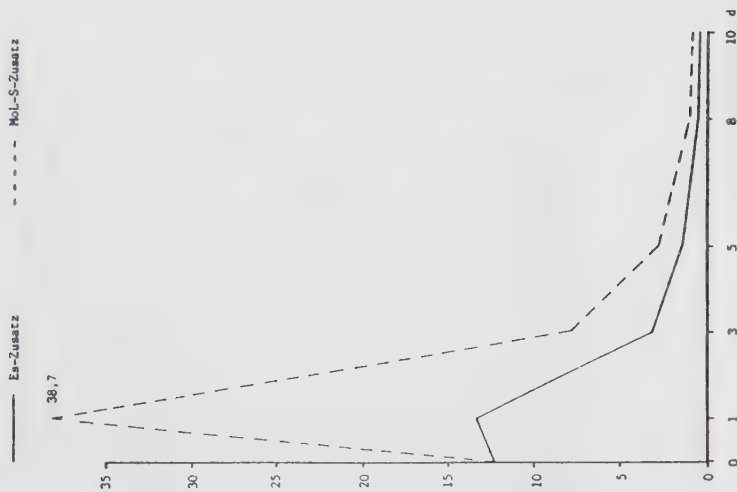


Abb. 5.2: Erythropoese (%-Verteilung)

Mittelwerte der Versuche I - IV  
Reifungsindices



| $S_0$                         | Es-Zusatz |      |      |      |      |      | Mol-S-Zusatz |      |      |      |      |       |
|-------------------------------|-----------|------|------|------|------|------|--------------|------|------|------|------|-------|
|                               | d         | 0    | 1    | 3    | 5    | 8    | 10           | 1    | 3    | 5    | 8    | 10    |
| $\frac{d}{\text{Zeilenzahl}}$ |           |      |      |      |      |      |              |      |      |      |      |       |
| ED3-4U                        | 23,4      | 5,85 | 3,09 | 1,49 | 0,53 | 0,08 | 14,3         | 4,82 | 0,94 | 0,38 | 0,15 | 0,075 |

Abb. 5.3: Erythroblasten-Reifungsindices (Ebl-RI)

# Mittelwerte der Versuche I - IV Mitosen Erythropoese

| Zusatz | Ery-Zusatz |     |     |     |     |     | Mol-S-Zusatz |     |     |     |     |  |
|--------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|--------------|-----|-----|-----|-----|--|
|        | 0          | 1   | 3   | 5   | 8   | 10  | 1            | 3   | 5   | 8   | 10  |  |
| Ebl-MI | 5,5        | 4,0 | 5,5 | 4,6 | 5,2 | 0,0 | 2,4          | 3,5 | 8,1 | 2,9 | 7,4 |  |

— Ery-Zusatz      - - - - Mol-S-Zusatz

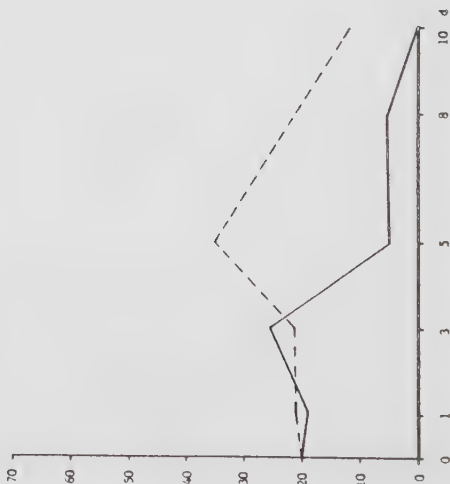


Abb. 5.4: Erythroblasten-Mitoseindizes (Ebl-MI)

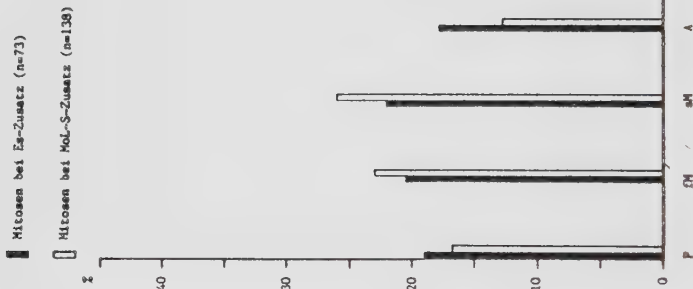


Abb. 5.5: Mitosephasen-Verteilung Erythropoese  
Zeichenerklärung s. S. 28

# Mittelwerte der Versuche I - IV Reifungskurven

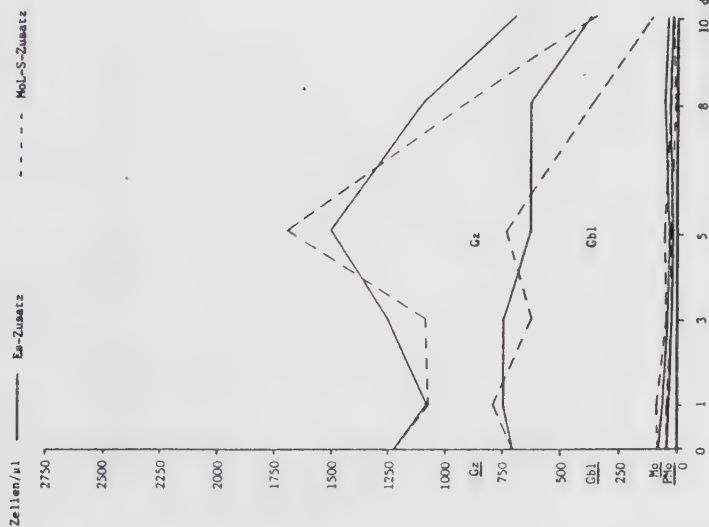


Abb. 5.6: Granulopoese (abs. Werte)

| Zellen | d   | Ea-Zusatz |     |     |      |      |     |     |     | Mol-S-Zusatz |      |    |   |   |   |   |    |
|--------|-----|-----------|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|--------------|------|----|---|---|---|---|----|
|        |     | 0         | 1   | 3   | 5    | 8    | 10  | 1   | 3   | 5            | 8    | 10 | 1 | 3 | 5 | 8 | 10 |
| Mo     | 1,1 | 0,8       | 0,3 | 0,4 | 0,8  | 3,3  | 2,2 | 0,5 | 0,5 | 0,6          | 1,2  |    |   |   |   |   |    |
| Pro    | 0,7 | 0,4       | 0,2 | 0,2 | 0,8  | 1,6  | 0,4 | 0,1 | 0,4 | 0,8          | 3,7  |    |   |   |   |   |    |
| Gz     | 1,4 | 4,6       | 6,3 | 3,6 | 12,0 | 11,1 | 2,9 | 3,3 | 5,9 | 12,4         | 11,7 |    |   |   |   |   |    |
| Seg    | 3,6 | 3,2       | 2,5 | 1,1 | 1,9  | 1,6  | 1,2 | 2,5 | 0,8 | 1,4          | 3,7  |    |   |   |   |   |    |
| Hb     | 1,6 | 2,2       | 1,5 | 1,1 | 2,1  | 2,9  | 1,1 | 2,3 | 1,7 | 1,8          | 1,6  |    |   |   |   |   |    |
| Pro    | 1,3 | 0,7       | 0,3 | 0,3 | 0,7  | 2,2  | 1,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2          | 0,7  |    |   |   |   |   |    |
| Gz     | 0,8 | 0,2       | 0,6 | 0,4 | 3,5  | 13,9 | 0,3 | 1,2 | 0,4 | 0,7          | 2,8  |    |   |   |   |   |    |
| Pro    | 1,1 | 2,3       | 3,6 | 1,5 | 4,2  | 3,2  | 0,7 | 3,4 | 1,6 | 6,3          | 5,7  |    |   |   |   |   |    |
| Pro    | 3,9 | 10,9      | 3,7 | 2,2 | 1,6  | 3,2  | 2,5 | 3,5 | 3,1 | 3,8          | 1,4  |    |   |   |   |   |    |
| Hb     | 0,3 | 0,1       | 0,1 | 0,1 | 0,3  | 0,1  | 0,6 | 0,1 | 0,1 | 0,1          | 0,0  |    |   |   |   |   |    |

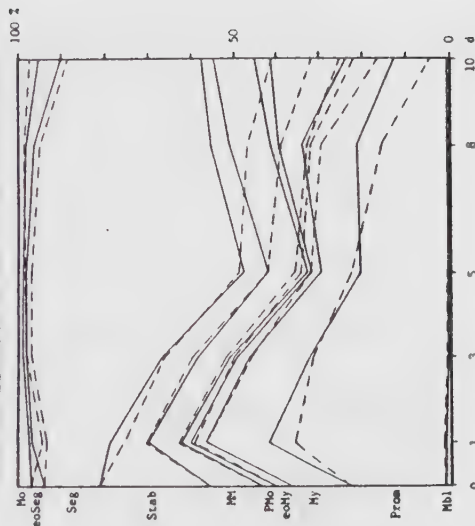


Abb. 5.7: Granulopoese (%-Verteilung)

Mittelwerte der Versuche I - IV  
Reifungsindices

| Zusatz | I <sub>0</sub> | Es-Zusatz |      |      |      |      | MoL-S-Zusatz |      |      |      |      |
|--------|----------------|-----------|------|------|------|------|--------------|------|------|------|------|
|        |                | 0         | 1    | 3    | 5    | 10   | 1            | 3    | 5    | 8    | 10   |
| Gbl-RI | 0,33           | 1,31      | 0,33 | 0,11 | 1,41 | 0,61 | 0,94         | 0,31 | 0,14 | 0,79 | 0,34 |

— Es-Zusatz      - - - - MoL-S-Zusatz

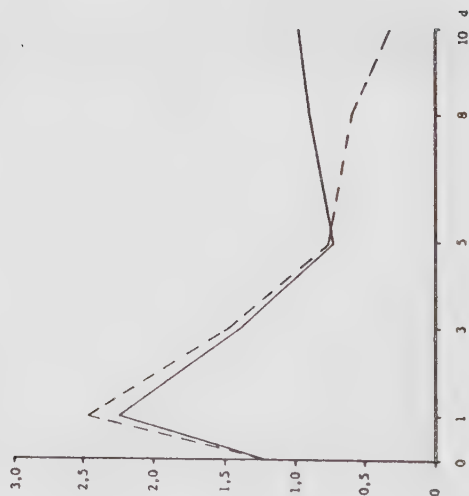


Abb. 5.8: Granuloblasten-Reifungsindices (Gbl-RI)

# Mittelwerte der Versuche I - IV Mitosen Granulopoese

|        | Z <sub>0</sub> | Ea-Zusatz |     |     |     |     |     | Mol-S-Zusatz |      |      |      |     |     |
|--------|----------------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|--------------|------|------|------|-----|-----|
|        |                | 0         | 1   | 3   | 5   | 8   | 10  | 1            | 3    | 5    | 8    | 10  | 10  |
| Zähl   | 4              | 0         | 1   | 3   | 5   | 8   | 10  | 4,6          | 13,6 | 12,4 | 11,5 | 8,0 | 3,3 |
| Gbl-MI | 4,7            | 4,9       | 7,9 | 6,6 | 3,8 | 4,6 | 3,8 | 4,6          | 13,6 | 12,4 | 11,5 | 8,0 | 3,3 |

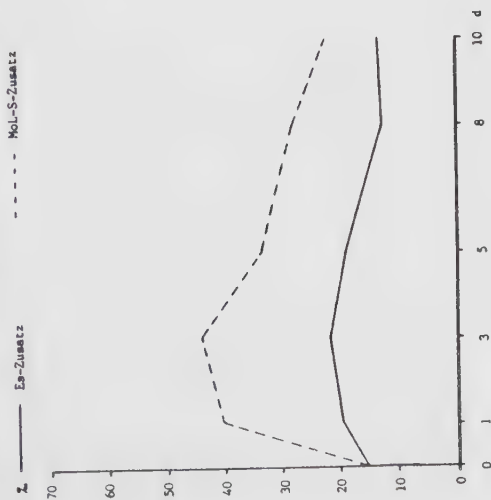


Abb. 5.9: Granuloblasten-Mitoseindizes (Gbl-MI)

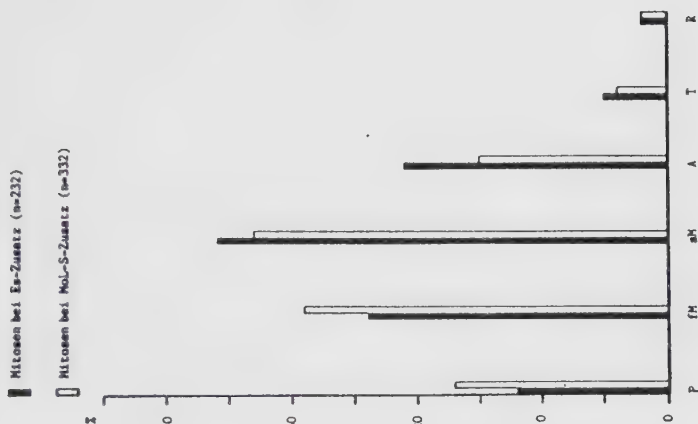


Abb. 5.10: Mitosephasen-Verteilung Granulopoese

Mittelwerte der Versuche I - IV  
Reifungskurven

|        | $t_0$ | Es-Zusatz |     |     |     |     |     |      |     | NH <sub>4</sub> S-Zusatz |     |     |      |  |
|--------|-------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|--------------------------|-----|-----|------|--|
|        |       | 4         | 0   | 1   | 3   | 5   | 8   | 10   | 1   | 3                        | 5   | 8   | 10   |  |
| Zellen |       |           |     |     |     |     |     |      |     |                          |     |     |      |  |
| Maße   |       |           | 0,4 | 0,3 | 1,4 | 1,7 | 3,7 | 16,6 | 0,1 | 1,3                      | 1,8 | 2,4 | 21,8 |  |

— Es-Zusatz      - - - - - NH<sub>4</sub>L-S-Zusatz

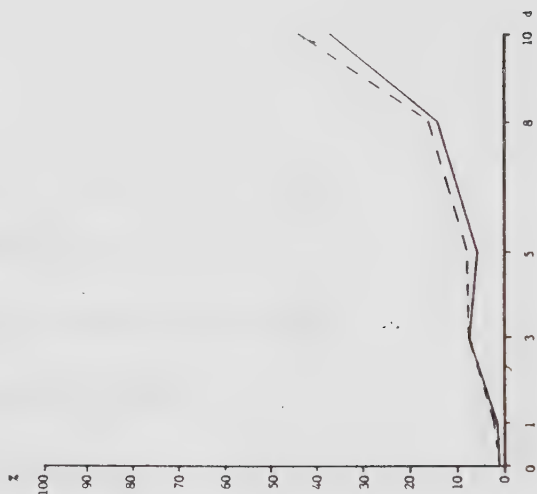


Abb. 5.12: Makrophagen (%-Verteilung)



Abb. 5.11: Makrophagen (abs. Werte)

# Mittelwerte der Versuche I - IV

| Zeit<br>h | Erythrozyten-Indices |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|           | 0                    | 1     | 3     | 5     | 8     | 10    | 1     | 3     | 5     | 10    |
| Mo/G-I    | 0,024                | 0,019 | 0,019 | 0,028 | 0,028 | 0,138 | 3,75  | 0,060 | 0,053 | 0,071 |
|           | 0,053                | 0,053 | 0,053 | 0,053 | 0,053 | 0,053 | 0,053 | 0,053 | 0,053 | 0,053 |

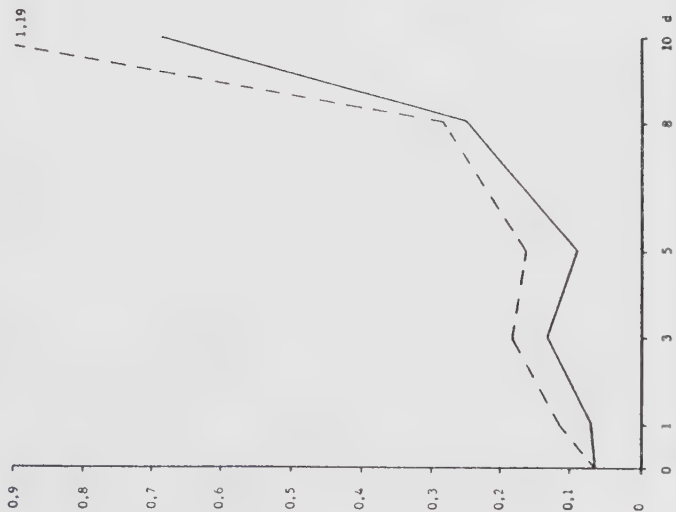


Abb. 5.13: Monozyten-Granulozyten-Indices (Mo/G-I)

| Zeit<br>h | Erythrozyten-Indices |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|           | 0                    | 1     | 3     | 5     | 8     | 10    | 1     | 3     | 5     | 10    |
| G/E-I     | 0,483                | 0,39  | 3,71  | 10,8  | 30,0  | 47,0  | 0,45  | 1,00  | 1,23  | 3,85  |
|           | 0,483                | 0,483 | 0,483 | 0,483 | 0,483 | 0,483 | 0,483 | 0,483 | 0,483 | 0,483 |

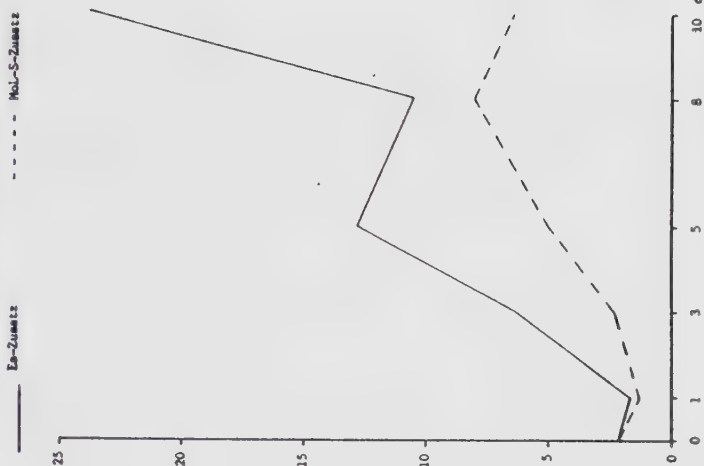


Abb. 5.14: Granulozyten-Erythrozyten-Indices (G/E-I)

### 3.3 Versuchsreihe II (Blutkulturen)

#### 3.3.1 Versuch V: CML-Blut

Zusatz: AMoL-Serum (Spender II)

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 6.1, 6.2, S. 74)

Im Eigenserum besteht zu Beginn eine leichte Vermehrung der Granuloblasten. Vom 4. Tag an nimmt ihre Zahl dann kontinuierlich ab. Die Zahl der Granulozyten vermindert sich zunächst während der ersten beiden Kulturtage, um dann anzusteigen und mit ca. 120 % des Ausgangswertes am 6. Tag ein Maximum zu erreichen. Die Differentialverteilung zeigt, abgesehen von einer erneuten Zunahme des Myelozytenanteils am 8. Tag, einen ähnlichen Verlauf.

Nach AMoL-S-Zusatz liegt die Gesamtzellzahl mit Ausnahme des 4. und 8. Tages niedriger als nach Es-Zusatz. Dies kann im wesentlichen auf den Rückgang der Granuloblastenzahlen zurückgeführt werden. Differentialverteilung und Reifungsindices (Abb. 6.2) zeigen ansonsten eine verstärkte Ausreifung mit mäßigem Rückgang der Granuloblasten (My, MM) und Zunahme des Granulozytenanteils (Seg). Die Verlangsamung des absoluten Granuloblastenrückgangs am 4. Tag fällt zeitlich mit einer prozentualen Zunahme der Promyelozyten und einem Anstieg des Gbl-Mitoseindex (Tab. 16, S. 153) zusammen. Die niedrige absolute Anzahl monozytärer Zellen (PMo+Mo) in beiden Ansätzen läßt insgesamt lediglich die Feststellung einer Vermehrung am 2. Tag durch den AMoL-S-Zusatz zu.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Tab. 16, S. 153)

Während der Gbl-Mitoseindex bei Es-Zusatz bis zum 2. Tag auf das Doppelte des Ausgangswertes zunimmt, um dann bis zum 6. Tag auf Null abzusinken, steigt er bei Zusatz von AMoL-Serum bis zum 4. Tag kontinuierlich an, wo er das 8-fache des Ausgangswertes erreicht. Selbst am 8. Tag treten hier noch Mitosen auf.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 6.3, 6.4, S. 75)

Die Makrophagenzahl nimmt in beiden Versuchsansätzen nur geringfügig zu, wobei der Schwerpunkt erwartungsgemäß in der 2. Hälfte der Kulturzeit liegt. Diese Tendenz zeigt sich unter AMoL-S-Zusatz mit Ausnahme des letzten Tages deutlicher als unter Es-Zusatz.

Erythroblasten/-mitosen (Abb. 6.1, S. 74)

Einige Erythroblasten sind schon im 0-Stunden-Präparat vorhanden. Bei Es-Zusatz bleibt ihre Zahl über die gesamte Beobachtungsdauer annähernd konstant.

Nach AMoL-S-Zusatz zeigt sich im Gegensatz dazu eine deutliche Vermehrung an allen Tagen. Am 4. Tag fallen bei maximaler Vermehrung der Erythroblastenzahlen 4 Mitosen in Nestern basophiler Erythroblasten auf.

# Reifungskurven Versuch V

| Obt-RI      | d | 2    | 4    | 6    | 8    |
|-------------|---|------|------|------|------|
| Es-Zusatz   |   | 1,81 | 0,78 | 0,49 | 0,54 |
| AMoL-S-Zus. |   | 0,12 | 0,68 | 0,34 | 0,29 |

O-h-Wert: 1,25

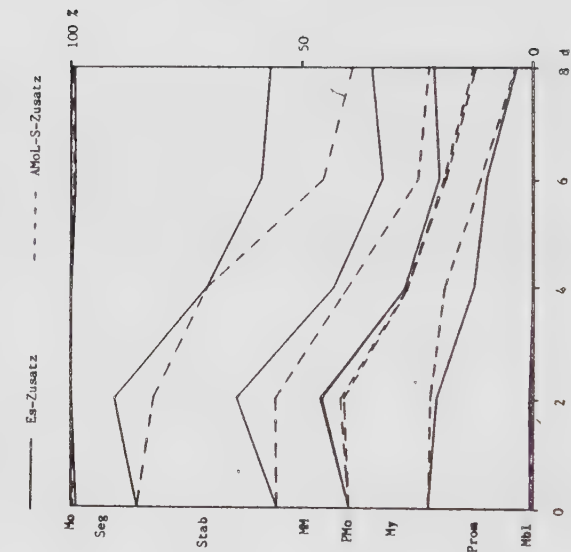


Abb. 6.2: Granulopoese (%-Verteilung)

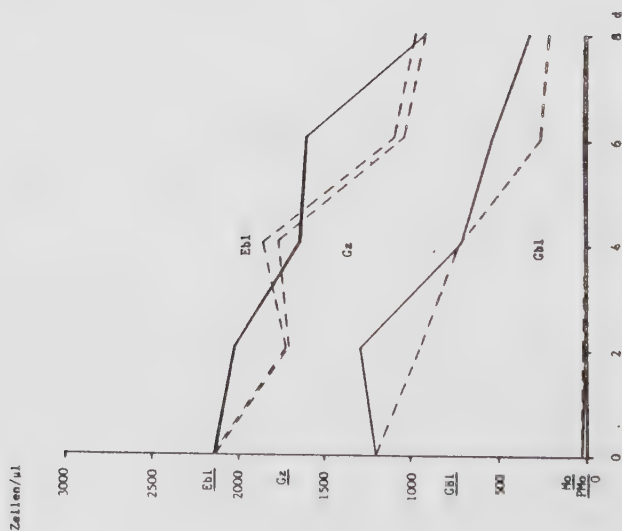


Abb. 6.1: Granulopoese (abs. Werte)

# Reifungskurven Versuch V

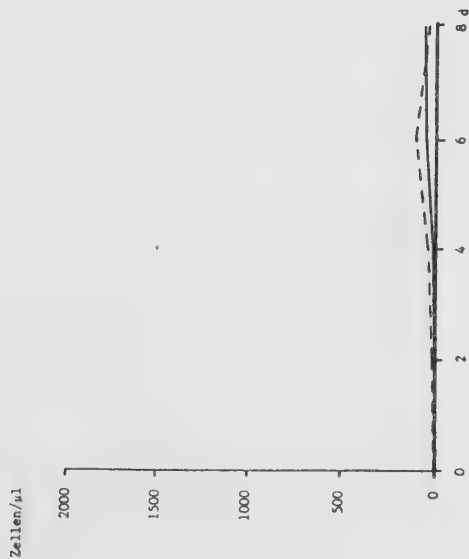


Abb. 6.3: Makrophagen (abs. Werte)

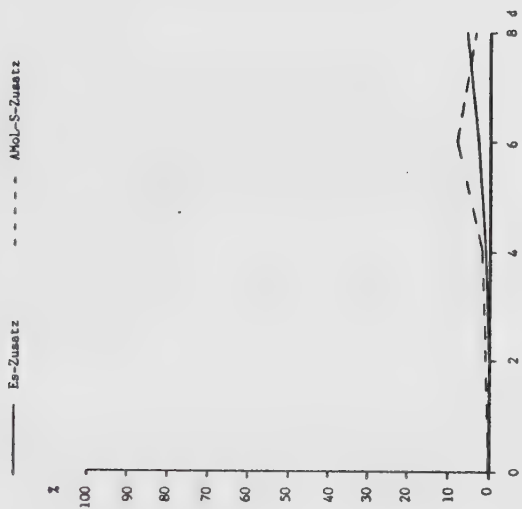


Abb. 6.4: Makrophagen (%-Verteilung)

### 3.3.2 Versuch VI: CML-Blut

Zusatz: AMMoL-Serum (Spender I)

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 7.1, 7.2, S. 78)

Bei Es-Zusatz werden nach einem Rückgang der Granuloblasten- und Granulozytenzahlen am 2. Tag die jeweiligen Ausgangswerte am 5. Tag wieder erreicht. Die Zunahme erfolgt in der Gruppe der Granuloblasten zugunsten der Promyelozyten, bei den Granulozyten zugunsten der Segmentkernigen (Abb. 7.2). Der nachfolgende starke Abfall der Zellzahlen flacht vom 7. Tag an ab, was sich auch in einer relativen Zunahme der Promyelozyten sowie in einem leichten Anstieg des Mitoseindex (Tab. 16, S. 153) dokumentiert. Die Zahl der monozytären Zellen (PMo+Mo) fällt bis zum 2. Tag um mehr als 50 %, bleibt an den folgenden Tagen dann aber in etwa konstant.

Nach AMMoL-S-Zusatz zeigt sich am 2. Tag ein Anstieg der Gesamtzellzahl auf etwa das Doppelte des Vergleichswertes bei Es-Zusatz, wobei sowohl Granuloblasten als auch Granulozyten absolut zunehmen. Während die Zahl der Granulozyten erheblich höher als im Eigenserum verbleibt, nehmen die Granuloblasten zunächst bis zum 7. Tag wieder ab, liegen am 10. Tag aber wieder über dem Kontrollwert. Die Differentialverteilung zeigt nach AMMoL-S-Zusatz an allen Tagen eine Verminderung des Granuloblastenanteils, anfangs vor allem der Promyelozyten, später auch der Myelozyten. Die parallel dazu verlaufende Zunahme der Segmentkernigen führt entsprechend zur stetigen Senkung der Granuloblasten-Reifungsindices (Gbl-RI) (Abb. 7.2). Bei den monozytären Zellen (PMo+Mo) bewirkt der Zusatz von AMMoL-Serum am 5. Tag eine deutliche absolute Vermehrung dieser Zellen bei etwa gleicher Differentialverteilung. Der 7. und 9. Tag zeigen dagegen eine zunächst nur relative, später auch absolute Abnahme ihrer Zahl.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Tab. 16, S. 153)

Der Gbl-Mitoseindex verbleibt bei Es-Zusatz während der ersten beiden Tage in der Höhe des Ausgangswertes und sinkt dann bis zum 5. Tag auf Null.

Der AMMoL-S-Zusatz bewirkt im Vergleich dazu eine deutliche Steigerung, so daß der Mitoseindex noch am 9. Tag über dem Ausgangswert liegt.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 7.3, 7.4, S. 79)

Die Zahl der Makrophagen im Eigenserum nimmt an den ersten beiden Tagen des Inkubationszeitraums sowohl absolut als auch relativ rasch zu, um dann annähernd konstant zu bleiben.

Nach AMMoL-S-Zusatz ist ihre Zahl absolut und anteilmäßig an allen Tagen vermindert. Eine Mitose wird beobachtet.

Erythroblasten/-mitosen (Abb. 7.1, S. 78)

Im Eigenserum kommen vom 2. Tag an geringe Zahlen von Erythroblasten vor, die durch den AMMoL-S-Zusatz am 2. und erneut am 7. Tag zunehmen. Erythroblasten-Mitosen werden in beiden Ansätzen nicht beobachtet.

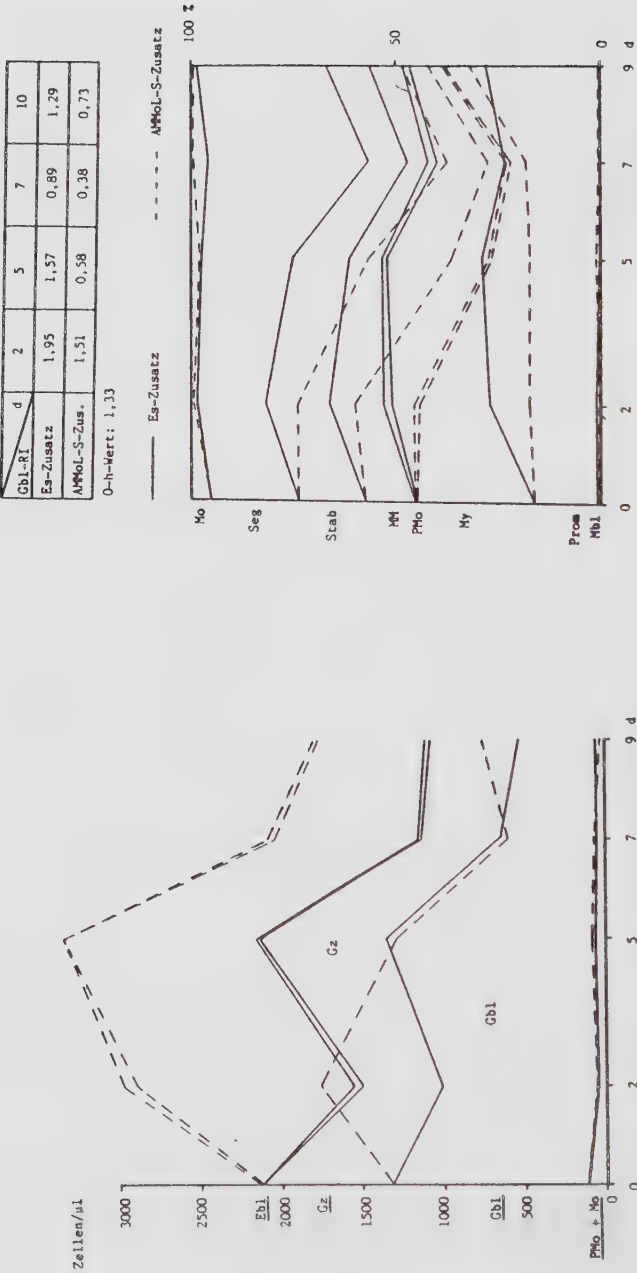


Abb. 7.1: Granulopoese (abs. Werte)

Abb. 7.2: Granulopoese (%-Verteilung)

# Reifungskurven Versuch VI

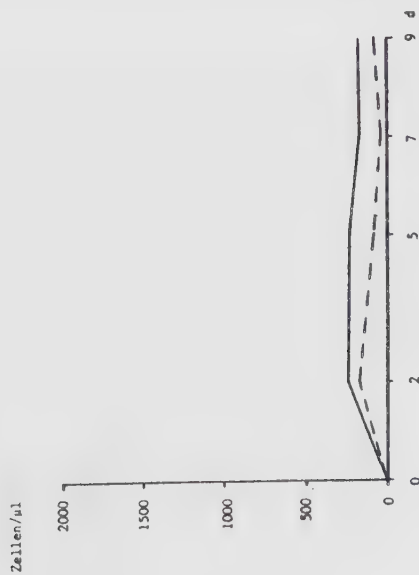


Abb. 7.3: Makrophagen (abs. Werte)

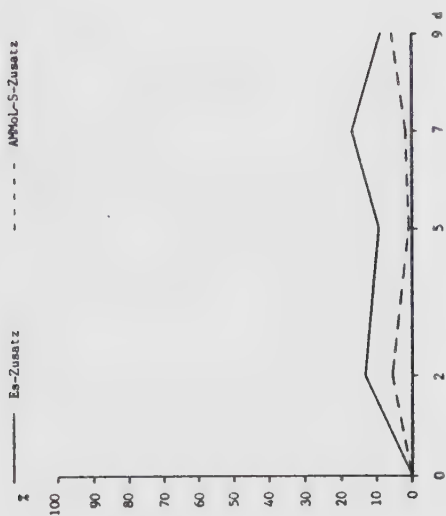


Abb. 7.4: Makrophagen (%-Verteilung)

### 3.3.3 Versuch VII: CML-Blut

Zusatz: AMMoL-Serum (Spender I)

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 8.1, 8.2, S. 81)

Nach Es-Zusatz zeigt sich eine stetige Verminderung der Gesamtzellzahl. Sie betrifft anfangs besonders die Granulozyten und monozytären Zellen, später aber auch die Granuloblasten. Prozentual nehmen die Myelozyten, Metamyelozyten, Stabkernigen und Promonozyten am 3. Tag zu Lasten der Segmentkernigen zu. Daran schließt sich eine deutliche Ausreifungstendenz mit anteiliger Zunahme der Segmentkernigen und entsprechendem Absinken des Granuloblasten-Reifungsindex (Gbl-RI) an (Abb. 8.2).

Der AMMoL-S-Zusatz führt zu einer stetigen absoluten und relativen Verminderung der Granuloblasten sowie zu einer anfangs nur relativen, gegen Ende der Inkubationszeit auch absoluten Vermehrung der Granulozyten. Entsprechend ist der Granuloblasten-Reifungsindex vermindert. Der Anteil der monozytären Zellen ist, bei ähnlicher Entwicklung ihrer absoluten Zellzahlen, am 3. Tag zunächst leicht vermehrt, später dagegen vermindert.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Tab. 16, S. 153)

Lediglich bei Zusatz von AMMoL-Serum treten am 3. Kulturtag 5 Mitosen bei 97 teilungsfähigen Granuloblasten auf.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 8.3, 8.4, S. 82)

Die Absolut- und Relativwerte der Makrophagen zeigen nach anfänglich rascher Erhöhung eine Abnahme am 5. Tag. In der 2. Hälfte der Kulturzeit steigt ihre absolute Zahl geringfügig an, während ihr Anteil an der Gesamtzellzahl Werte von mehr als 50 % erreicht.

Der AMMoL-S-Zusatz führt zunächst zur absoluten und relativen Verminderung, später jedoch zu einer Vermehrung der Makrophagenzahlen. Insgesamt werden 2 Mitosen beobachtet.

# Reifungskurven Versuch VII

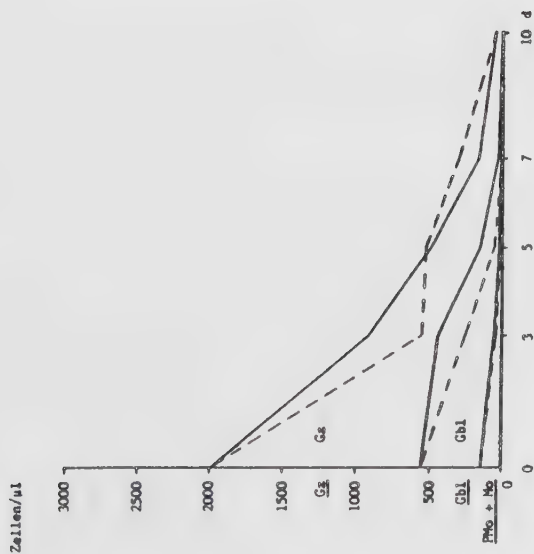


Abb. 8.1: Granulopoese (abs. Werte)

| Gbl-Rl      | d | 3    | 5    | 7    | 10   |
|-------------|---|------|------|------|------|
| Es-Zusatz   |   | 0,72 | 0,32 | 0,07 | 0,00 |
| Amol-S-Zus. |   | 0,54 | 0,05 | 0,00 | 0,00 |

O-h-Wert: 0,26

— Es-Zusatz      - - - - Amol-S-Zusatz

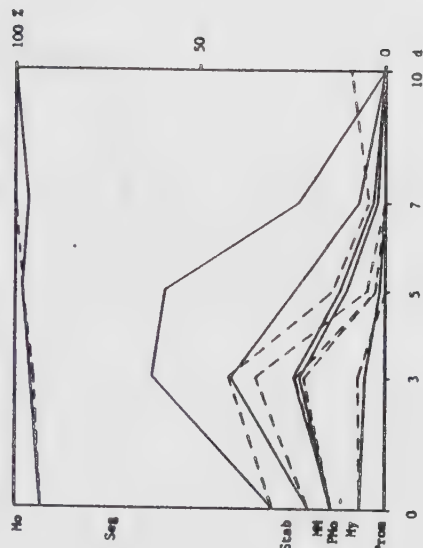


Abb. 8.2: Granulopoese (%-Verteilung)

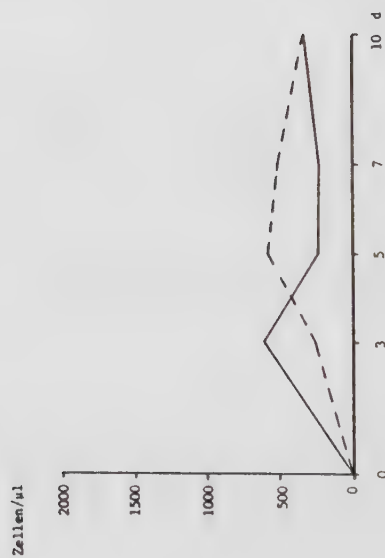


Abb. 8.3: Makrophagen (abs. Werte)



Abb. 8.4: Makrophagen (%-Verteilung)

### 3.3.4 Versuch VIII: OMS-Blut

Zusatz: AMMoL-Serum (Spender I)

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 9.1, 9.2, S. 84)

Bereits nach 2 und noch deutlicher nach 4 Tagen findet sich unter Es-Zusatz eine erhebliche absolute Verminderung der Granulozyten und Granuloblasten, die sich auch nach 6 Tagen fortsetzt. Die Differentialverteilung zeigt dabei einen Rückgang der Stabkernigen bei Anstieg der Segmentkernigen. Die Zahl der monozytären Zellen nimmt bis zum 2. Tag absolut und relativ stark ab, um dann annähernd konstant zu bleiben.

Der AMMoL-S-Zusatz führt, abgesehen von einer Verminderung des absoluten Wertes der Granulozyten, zu keiner wesentlichen Änderung in der Entwicklung der Granuloblasten- und Granulozytenzahlen. Auch die Differentialverteilung und die Granuloblasten-Reifungsindices zeigen nur geringe Unterschiede (Abb. 9.2). Am 8. Tag treten im AMMoL-Serum allerdings Zellen der Granulopoese nicht mehr auf. Im Gegensatz dazu sind die monozytären Zellen (PMo+Mo), besonders die Monozyten, am 2. Tag sowohl absolut als auch relativ um mehr als 100 % vermehrt. Die zweite Hälfte der Kulturzeit zeigt sowohl absolut als auch prozentual eine Verminderung ihrer Zahl unter AMMoL-S-Zusatz.

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Tab. 16, S. 153)

Nach Es-Zusatz finden sich wie auch im 0-Stunden-Präparat keine Mitosen, während nach Zusatz von AMMoL-Serum am 2. und 4. Tag einige Mitosen beobachtet werden.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 9.3, 9.4, S. 85)

Die Absolutwerte der Makrophagen zeigen einen biphasischen Verlauf mit Gipfeln am 2. und 6. Tag. Ihr Anteil an der Gesamtzellzahl nimmt in beiden Ansätzen mit fortschreitender Inkubationsdauer steil und stetig zu. Dabei liegen im AMMoL-Serum die absoluten wie relativen Werte in der ersten Hälfte des Inkubationszeitraums niedriger, in der zweiten Hälfte höher als die Vergleichswerte des autologen Serums. Am 10. Tag werden lediglich Makrophagen und Lymphozyten beobachtet. Insgesamt wird eine Makrophagenmitose gezählt.

# Reifungskurven Versuch VIII

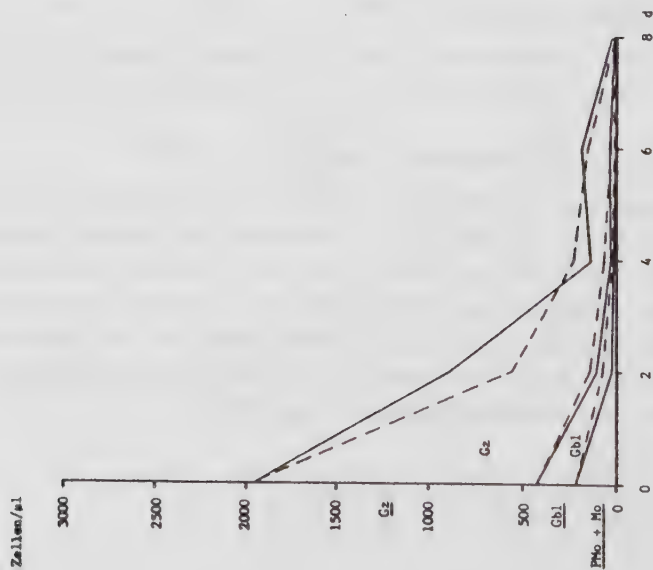


Abb. 9.1: Granulopoese (abs. Werte)

| Gbl-Zf     | 2    | 4    | 6    | 8    |
|------------|------|------|------|------|
| Es-Zusatz  | 0,10 | 0,17 | 0,16 | 0,12 |
| Mol-S-Zus. | 0,14 | 0,20 | 0,20 | —    |

O-b-Wert: 0,13

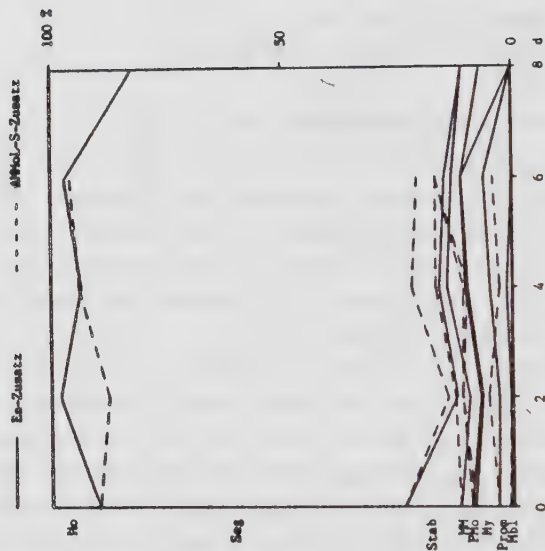


Abb. 9.2: Granulopoese (%-Verteilung)

# Reifungskurven Versuch VIII

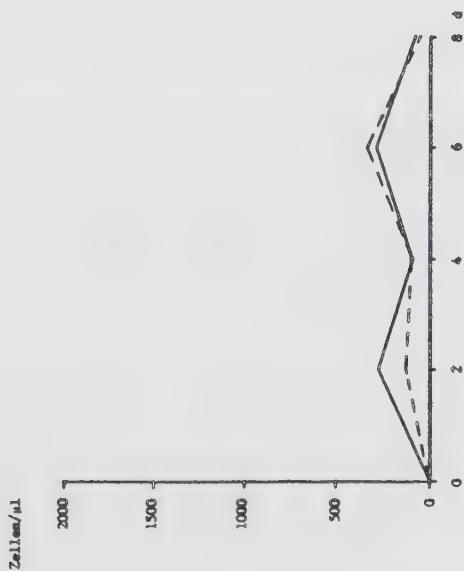


Abb. 9.3: Makrophagen (abs. Werte)

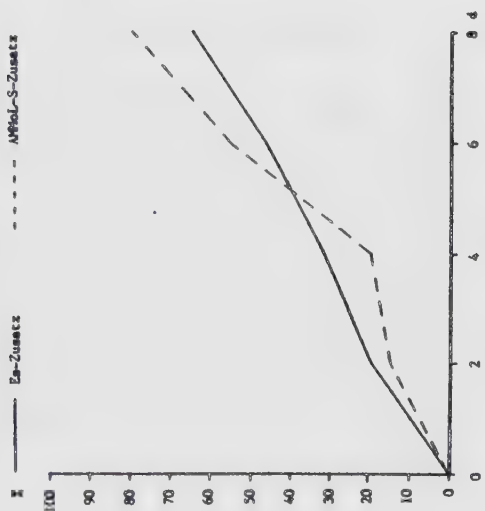


Abb. 9.4: Makrophagen (%-Verteilung)

### 3.3.5 Versuch IX: CMoL-Blut

Zusatz: AMMoL-Serum (Spender I)

#### Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 10.1, 10.2, S. 87)

Unter Es-Zusatz nimmt sowohl die Zahl der Granuloblasten als auch die der Granulozyten zunächst nur leicht, später stärker ab. In der Differentialverteilung zeigt sich bis zum 3. Tag eine Vermehrung der Promyelozyten und der Segmentkernigen. Es schließt sich eine Abnahme der Teilungsfähigen, hier besonders der Promyelozyten, sowie im weiteren Verlauf auch der Segmentkernigen an, so daß Granuloblasten und Granulozyten am 10. Tag nicht mehr auftreten. Bei den monozytären Zellen vermindern sich zunächst sowohl die Promonozyten- als auch insbesondere die Monozytenzahlen absolut und relativ. Während Promonozyten vom 7. Tag an nicht mehr nachweisbar sind, nehmen die Monozyten vom 5. Tag an relativ und vom 7. Tag andann auch absolut wieder zu.

Durch den AMMoL-Serum-Zusatz kommt es, mit Ausnahme des 10., an allen Tagen zu einer absoluten sowie relativen Verminderung der Granuloblasten und noch deutlicher der Granulozyten. Demzufolge ist der Granuloblasten-Reifungsindex stets erniedrigt. Während im Eigenserum am 10. Tag keine Segmentkernigen nachweisbar sind, steigt ihre Zahl im AMMoL-Serum sowohl absolut als auch relativ wieder an. In der Gruppe der monozytären Zellen (PMo+Mo) kommt es durch den AMMoL-S-Zusatz an allen Tagen, mit Ausnahme des 10., zu einer hochsignifikanten Erhöhung der Zellzahlen (Tab. 24, S. 156).

#### Granuloblasten-Mitoseindices (Tab. 16, S. 153)

Nach 3 Tagen kommt es unter Es-Zusatz zu einem Anstieg des Gbl-Mitoseindex, der unter AMMoL-S-Zusatz deutlicher ausgeprägt ist. Mitosen werden unter Es-Zusatz nur bei den Promyelozyten beobachtet, finden sich am 5. Tag jedoch nicht mehr. Im AMMoL-Serum treten sie auch bei den Promonozyten auf, hier finden sich erst am 7. Tag keine Mitosen mehr.

#### Reifungskurven der Makrophagen (Abb. 10.3, 10.4, S. 88)

Die absolute Makrophagenzahl liegt im Eigenserum durchweg sehr hoch und zeigt einen biphasischen Verlauf mit Maxima am 3. und 7. Stichtag. Der Anteil der Makrophagen an der Gesamtzellzahl steigt bis zum 3. Tag deutlich an und erreicht gegen Ende der Inkubationszeit einen Wert von nahezu 80 %.

Bei AMMoL-S-Zusatz sind die Makrophagen bis zum 7. Tag hochsignifikanten vermindert, am 10. Tag dagegen hochsignifikant vermehrt (Tab 25, S. 157).

# Reifungskurven Versuch IX

- 87 -

| Chl-Rl       | d | 3    | 5    | 7    | 10   |
|--------------|---|------|------|------|------|
| Es-Zusatz    |   | 0,42 | 0,16 | 0,17 | 0,00 |
| AMhol-S-Zus. |   | 0,22 | 0,09 | 0,01 | 0,00 |

O-h-Hert: 0,26

— Es-Zusatz      - - - - AMhol-S-Zusatz

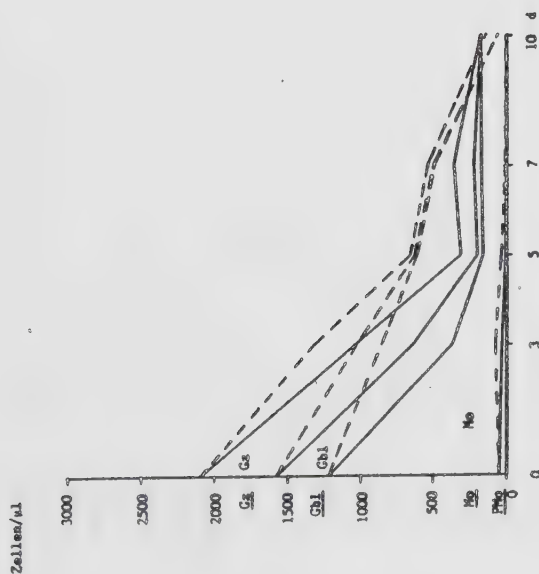


Abb. 10.1: Granulopoe (abs. Werte)

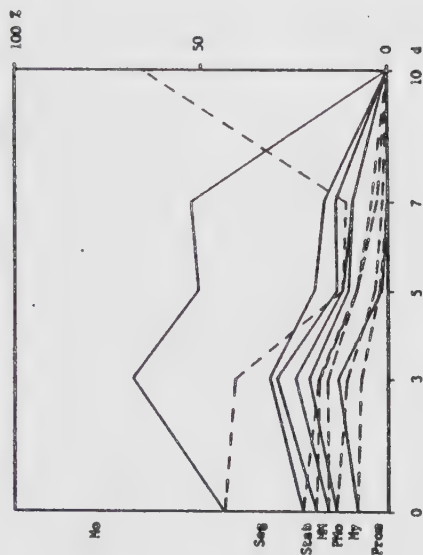


Abb. 10.2: Granulopoe (%-Verteilung)

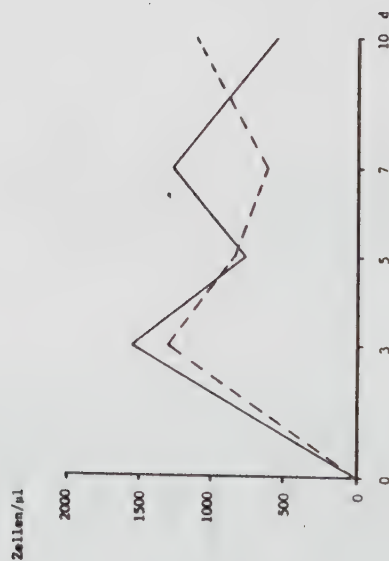


Abb.10.3: Makrophagen (abs. Werte)

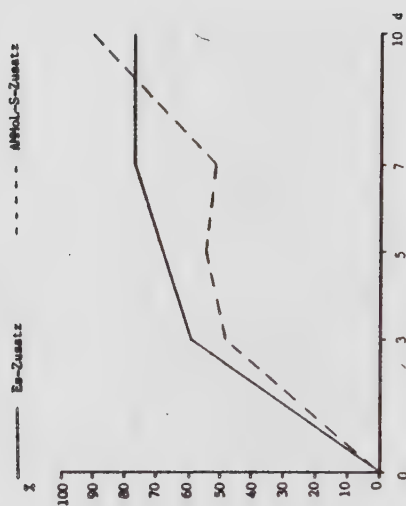


Abb.10.4: Makrophagen (x-Verteilung)

### 3.3.6 Zusammenfassung der Versuchsreihe II (Blutzellen bei myeloproliferativen Syndromen)

Mittelwerte: Reifungskurven der Granulopoese (Abb. 11.1, 11.2, S. 91)

Die Mittelwerte der Versuche V - VIII\* mit Es-Zusatz zeigen die stetige Abnahme der absoluten Granuloblasten- und Granulozytenzahlen. In der Differentialverteilung nehmen dem Anstieg des Cbl-Mitoseindex entsprechend die Granuloblasten, besonders die Promyelozyten und Myelozyten, zunächst zu. Parallel dazu steigt der Granuloblasten-Reifungsindex an (Abb. 11.3, Tab. 17, S. 92, 153). Im weiteren Verlauf kommt es dann zu einem prozentualen Anstieg der Segmentkernigen bei Abnahme des Granuloblastenanteils (Abb. 11.2) und begleitendem Rückgang der Cbl-Reifungsindices.

Die Absolutwerte der monozytären Zellen (PMo+Mo) sinken anfangs deutlich ab und bleiben im weiteren Verlauf nahezu konstant, während der Anteil der Promonozyten an der Gesamtzellzahl stetig zunimmt. Der Monozytenanteil erreicht nach anfänglichem Absinken zum Ende der Kulturzeit wieder den Ausgangswert.

Der MoL-S-Zusatz bewirkt in den Gruppen der Granuloblasten und der Granulozyten bis zum 3. Tag nur geringe absolute Veränderungen der Zellzahlen, während prozentual die Granulozyten auf Kosten der Granuloblasten zunehmen. Im Hinblick darauf ist der Granuloblasten-Reifungsindex zu diesem Zeitpunkt hochsignifikant erniedrigt (Abb. 11.3; Tab. 17, 20, S. 92, 153, 154). Der weitere Verlauf zeigt eine Verstärkung der Ausreifungstendenz mit relativer sowie absoluter Zunahme der Granulozyten, während die Granuloblasten anteilmäßig an allen Tagen und lediglich am 6. Tag auch absolut abnehmen. Auch in diesem Zeitraum bleibt der Granuloblasten-Reifungsindex somit hochsignifikant erniedrigt (Tab. 20, S. 154).

Die Absolutwerte der monozytären Zellen (PMo+Mo) sind durch den MoL-S-Zusatz lediglich am 2. - 3. Tag leicht erhöht, verändern sich aber ansonsten wenig. Die Differentialverteilung zeigt dagegen eine hochsignifikante Zunahme des Anteils der Promonozyten und Monozyten an der Granulopoese am 2. - 3. Tag, welcher, infolge der Ausreifung zu Makrophagen, eine hochsignifikante Abnahme am 6. - 7. und 8. - 10. Tag folgt (Tab. 21, S. 155). Entsprechend sind gegen Ende der Inkubationszeit die Makrophagen hochsignifikant vermehrt (Tab. 22, S. 155).

---

\* Bei der Mittelwertbildung wird der Versuch IX wegen der dort beobachteten äußerst starken Stimulation der Monopoese nicht berücksichtigt.

Mittelwerte: Granuloblasten-Mitoseindices (Abb. 11.4, Tab. 16, S. 93, 153)

Die Mittelwerte der Gbl-Mitoseindices der Versuche V - IX erhöhen sich bei Es-Zusatz bis zum 2. Tag. Danach fallen sie jedoch rasch ab und erreichen am 6. Tag den Wert Null.

Der Mol-S-Zusatz führt zu einem steileren Anstieg der Kurve, so daß sie bei ähnlichem Verlauf selbst am 8. Tag noch über dem Ausgangswert liegt. Die Unterschiede zwischen beiden Ansätzen sind an allen Tagen hochsignifikant bzw. signifikant (Tab. 19, S. 154).

Mitosephasenverteilung der Granuloblasten-Mitosen (Abb. 11.5, S. 93)

Die karyologische Kurve der Granuloblasten-Mitosen zeigt keine signifikanten Unterschiede in der Mitosephasenverteilung beider Ansätze.

Mittelwerte: Reifungskurven der Makrophagen \* (Abb. 11.6, 11.7, S. 94)

Die absolute Makrophagenzahl erhöht sich im Eigenserum mäßig bis zum 2. Tag, um dann langsam abzunehmen. Ihr Anteil an der Gesamtzellzahl zeigt dagegen eine stetige Zunahme.

Der Mol-S-Zusatz führt nach anfänglich hochsignifikanter Abnahme zu einer ebenfalls hochsignifikanten Zunahme der Makrophagen am 8. - 10. Tag (Tab. 22, S. 155).

Mittelwerte: Mo/G-Indices \* (Abb. 11.8, Tab. 18, S. 95, 153)

Die Mo/G-Indices steigen bei Es-Zusatz als Folge der Zunahme der Makrophagen bis zum 10. Tag steil und kontinuierlich an.

Der Mol-S-Zusatz führt zunächst zu einem weniger starken Ansteigen dieser Werte, mit der Konsequenz einer hochsignifikanten Abnahme am 2. Tag (Tab. 23, S. 156). Auch im weiteren Verlauf liegt der Mo/G-Index im Mol-Serum zunächst leicht unterhalb der Vergleichswerte, am 10. Tag übersteigt er jedoch infolge der deutlichen Makrophagenvermehrung den Wert im autologen Serum hochsignifikant.

---

\* Bei der Mittelwertbildung wird der Versuch IX wegen der dort beobachteten äußerst starken Stimulation der Monopoese nicht berücksichtigt.

# Mittelwerte der Versuche V - VIII Reifungskurven

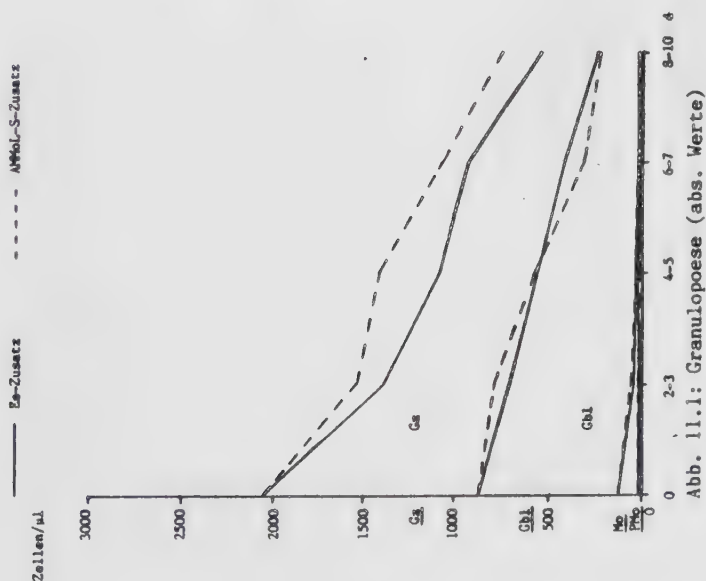


Abb. 11.1: Granulopese (abs. Werte)

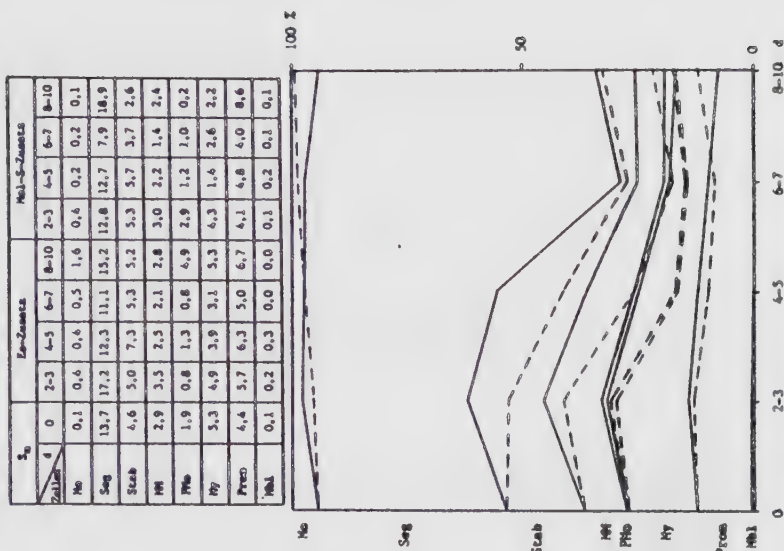


Abb. 11.2: Granulopese (%-Verteilung)

Mittelwerte der Versuche V - VIII  
Reifungsindices

| Zellen | d    | Re-Zemente |      |      |      |      | Mol-S-Zemente |      |      |      |  |
|--------|------|------------|------|------|------|------|---------------|------|------|------|--|
|        |      | 0          | 2-3  | 4-5  | 6-7  | 8-10 | 2-3           | 4-5  | 6-7  | 8-10 |  |
| Gbl-RI | 0,27 | 0,37       | 0,36 | 0,16 | 0,27 | 0,27 | 0,13          | 0,08 | 0,18 | 0,18 |  |

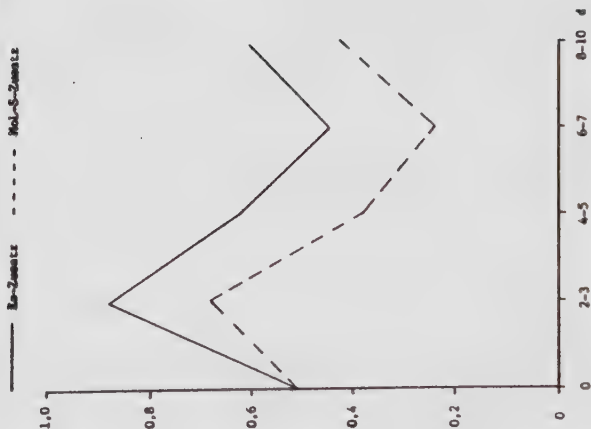


Abb. 11.3: Granuloblasten-Reifungsindices (Gbl-RI)

# Mittelwerte der Versuche V - IX Mitosen

| Zahl   | Ea-Zusatz |      |     |     |      | Mol.-S-Zusatz |      |     |      |  |
|--------|-----------|------|-----|-----|------|---------------|------|-----|------|--|
|        | 0         | 2-3  | 4-5 | 6-7 | 8-10 | 2-3           | 4-5  | 6-7 | 8-10 |  |
| Gbl-MI | 2,1       | 13,2 | 1,0 | 0,0 | 0,0  | 19,0          | 12,6 | 8,2 | 5,4  |  |

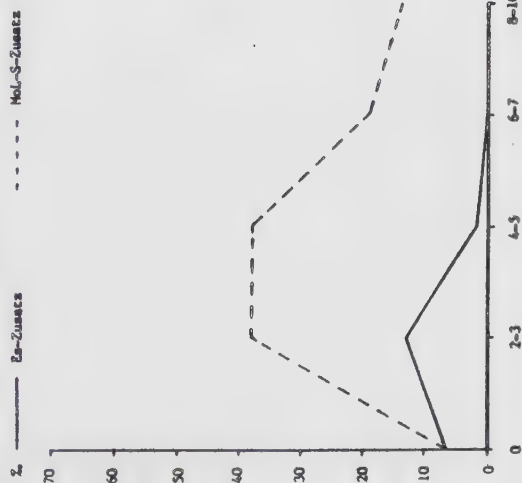


Abb. 11.4: Granuloblasten-Mitoseindices (Gbl-MI)

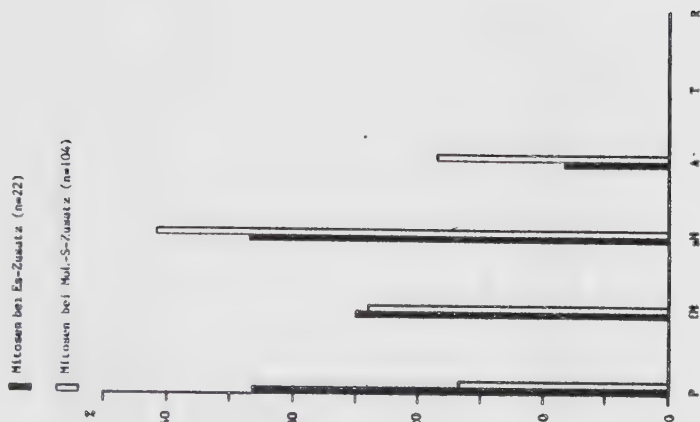


Abb. 11.5: Mitosephasen-Verteilung

Mittelwerte der Versuche V - VIII  
Reifungskurven

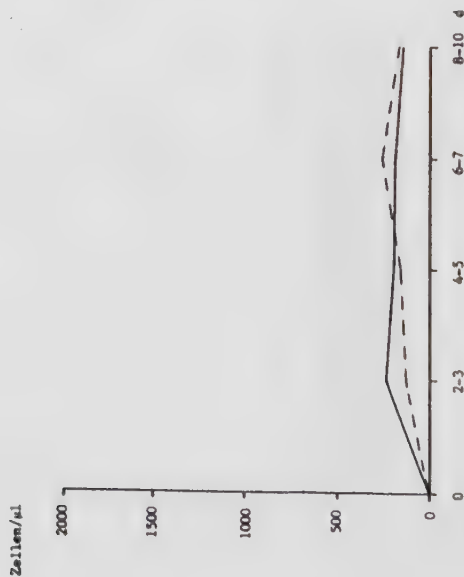


Abb. 11.6: Makrophagen (abs. Werte)

| $\bar{x}$ |   | Es-Zusatz |     |     |      |      | Mol-S-Zusatz |      |      |      |      |
|-----------|---|-----------|-----|-----|------|------|--------------|------|------|------|------|
| Zellen    | d | 0         | 2-3 | 4-5 | 6-7  | 8-10 | 0            | 2-3  | 4-5  | 6-7  | 8-10 |
| Mek       |   | 0,0       | 7,2 | 7,2 | 11,4 | 16,8 | 5,7          | 10,1 | 13,6 | 27,4 |      |

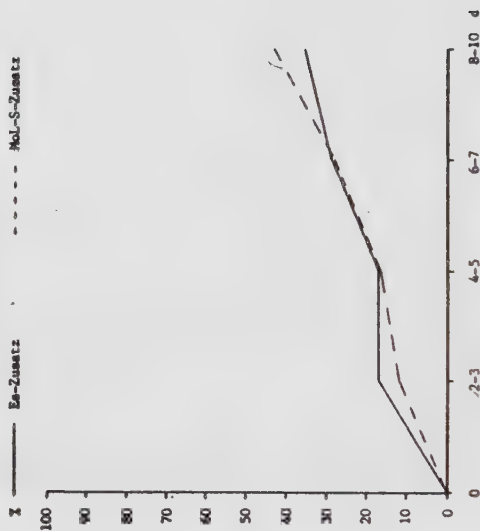


Abb. 11.7: Makrophagen (%-Verteilung)

# Mittelwerte der Versuche V - VIII

| Zähler | d    | Ex-Zusatz |      |      |      |      | Mol-S-Zusatz |      |     |      |  |
|--------|------|-----------|------|------|------|------|--------------|------|-----|------|--|
|        |      | 0         | 2-3  | 4-5  | 6-7  | 8-10 | 2-3          | 4-5  | 6-7 | 8-10 |  |
| Mo/G-I | 0,02 | 0,17      | 0,40 | 0,32 | 3,47 | 0,14 | 0,28         | 0,69 | 114 |      |  |

— Ex-Zusatz      - - - - Mol-S-Zusatz

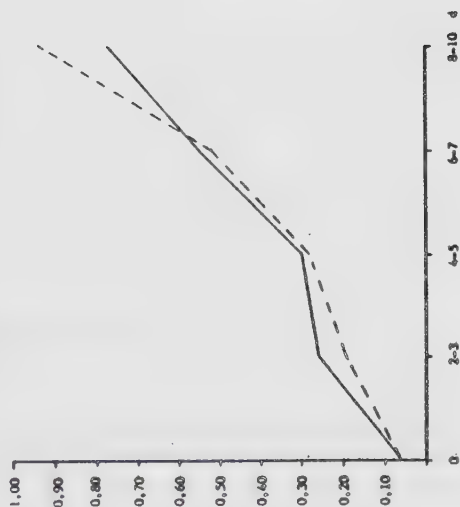


Abb. 11.8: Monozyten-Granulozyten-Indices (Mo/G-I)

## 4 Diskussion

### 4.1 Anmerkungen zur methodischen Vorgehensweise

Zur Untersuchung humoraler Regulatoren in den Seren zweier an AMMoL bzw. AMoL erkrankter Patienten mit in vivo erhöhtem Erythroblasten- und Granuloblasten-Mitoseindex wurde die Suspensionskulturmethode nach BOLL angewendet (s. S. 26). Normale Knochenmarkzellen wurden in RPMI-Medium mit Zusatz von 40 % MoL-Serum (AMMoL bzw. AMoL) 10 Tage lang in vitro kultiviert. Als Kontrolle diente der Zusatz von autologem Serum in gleicher Konzentration.

Gegenüber in-vivo-Versuchen bieten in-vitro-Untersuchungen den Vorteil der besseren Überschaubarkeit der Versuchsbedingungen durch Ausschaltung nervaler Einflüsse bzw. der Einflüsse innersekretorischer Drüsen. Im Unterschied zu physiologischen Bedingungen kommt es jedoch beispielsweise zu einer Akkumulation der durch Regeneration und Reifung entstandenen Zellen in der Kultur und damit möglicherweise auch zu Wechselwirkungen mit den Zellen des Proliferationsspeichers. Andererseits fließen keine neuen Stammzellen in die Kultur ein. Auch mechanische Faktoren, wie das Fehlen einer Strömung des Kulturmediums in vitro, stellen einen wichtigen Unterschied zu physiologischen Bedingungen dar. So kommt es nach Beobachtungen von BOLL und anderen Autoren in vitro zu einer Hemmung der Erythroblastenentkernung durch das Fehlen der Blutströmung- (42,278).

Im Vergleich zur Kultivierung in halbfesten Medien wie Agar oder Methylzellulose hat die Suspensionskulturmethode den Vorteil der größeren Ähnlichkeit mit in-vivo-Bedingungen. Sie schränkt die Zellmotilität nicht ein und ermöglicht dadurch Zell-Interaktionen, denen eine große Bedeutung für die Regulation der Proliferation zukommt (25,31,38,83,204,226). Durch die gleichzeitige Kultivierung aller Zellarten werden sowohl humorale als auch zelluläre Wechselwirkungen zwischen den Zellen verschiedener Reihen (z.B. Granulo- und Erythropoese) ermöglicht. Zur Prüfung der Beeinflussung der Proliferationskinetik durch menschliche Seren oder definierte Zusätze hat sich die Suspensionskulturmethode ebenfalls als geeignet erwiesen.

Sie erlaubt zudem eine wesentlich differenziertere Befunderhebung als andere Methoden. Durch sowohl Differential- als auch Mitosezählungen können beide Parameter der Proliferationskinetik, die Reifung und die Regeneration, getrennt beurteilt werden. Die Bestimmung der Zelldichte in den Kulturen ermöglicht darüber hinaus auch quantitative Aussagen über die einzelnen Regenera-

tions- und Reifungsschritte der Erythro- und der Granulopoese. Gegenüber der früher verwendeten Koagulum-Kulturmethode sind in der Suspensionskultur wesentlich längere Kulturzeiten erreichbar.

Aus der differenzierten Befunderhebung ergeben sich beim Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren oft Schwierigkeiten. So wird von ihnen teilweise die Proliferation nur als Ganzes betrachtet und zudem mit teilweise sehr unterschiedlichen Methoden gearbeitet, wie Agarkultur, Methylzellulose-Kultur, Diffusionskammermethode, Autoradiographie mittels Kernstoffwechselmarkierung, <sup>59</sup>Fe-Inkorporation und Langzeitsuspensionskulturen (270, 45, 15, 174, 114, 83). Die Vergleichbarkeit unserer Ergebnisse mit solchen Untersuchungen wird weiterhin durch die Verwendung von Zellen aus unterschiedlichen Geweben (z.B. Milz, Knochenmark, Blut, fetale Leberzellen usw.) verschiedener Spezies eingeschränkt. Speziell für Tierversuche gilt, daß sie im Gegensatz zu Untersuchungen an menschlichen Zellen nur modellhaften Charakter haben und keinen direkten Vergleich erlauben.

#### 4.2 Diskussion der Ergebnisse der Versuchsreihe I (Knochenmarkzellen)

##### 4.2.1 Erythropoese

###### 4.2.1.1 Diskussion der eigenen Ergebnisse

Die MoL-Serum-Zusätze bewirken im Vergleich zum autologen Serumzusatz in gleicher Konzentration im Mittel aller vier Versuche eine hochsignifikante Vermehrung der Erythropoese zugunsten der teilungsfähigen Erythroblasten (Abb. 5.1, 5.2, S. 64; Tab. 4, 10, S. 147, 150) und damit eine hochsignifikante Senkung der G/E-Indices (Abb. 5.14, S. 71; Tab. 7, 15, S. 148, 152). Der Mitoseindex der Erythroblasten wird dabei durch die MoL-S-Zusätze nicht verändert (Abb. 5.4, S. 66; Tab. 1, 9, S. 146, 149). In beiden Ansätzen (MoL und Es) nimmt der mittlere Mitoseindex bis zum 3. Tag leicht zu. Dies ist in gleicher Weise in der Literatur beschrieben (38, 120, 311).

Die beiden Befunde "verstärkte Proliferation" und "unveränderter Mitoseindex" stellen dabei nur scheinbar einen Widerspruch dar. So ist der Mitoseindex nicht unbedingt gleichbedeutend mit der Mitosehäufigkeit, denn er vernachlässigt als Parameter der Regeneration die Reifung (13). Liegt beispielsweise in einer Zellpopulation eine Reifungshemmung vor, führt dies zu einer Zunahme

des Anteils teilungsfähiger Zellen an der Gesamtzellzahl und zwar zunächst ohne diese absolute Zellzahl zu erhöhen. Eine solche Zellpopulation wird gegenüber einer anderen mit normaler Ausreifung und einem entsprechend geringeren Erythroblastenanteil bei gleichem Mitoseindex stärker wachsen, da die absolute Zahl der Zellteilungen, gleiche Mitosedauer vorausgesetzt, in der Population mit dem größeren Anteil teilungsfähiger Erythroblasten höher ist.

Betrachtet man die Erythroblasten-Reifungsindices (Ebl-RI), so sind diese tatsächlich hochsignifikant erhöht, was nach den o. g. Überlegungen als Reifungshemmung aufzufassen ist (Abb. 5.3, S. 65; Tab. 4, 10, S. 147, 150). Die verstärkte Regeneration in der Erythropoese kann sich somit infolge der Reifungshemmung nicht in einem Anstieg des Mitoseindex manifestieren. Die Reifungshemmung wird ferner im verspäteten und hochsignifikant abgeschwächten Anstieg der G/E-Indices deutlich (Abb. 5.14, S. 71; Tab. 7, 15, S. 148; 152).

In den beiden gefrorenen MoL-Seren muß daher neben einem die Erythropoese stimulierenden Faktor ein die Ausreifung hemmender Faktor vorkommen. Die Wirkung dieses Hemmfaktors erreicht ihr Maximum nach 24 Stunden und nimmt im weiteren Verlauf ab. Dies ist am schnelleren Rückgang der Ebl-Reifungsindices (Abb. 5.3, S. 65; Tab. 4, S. 147) und an der absoluten wie auch relativen Verminderung der reifen Erythroblasten (Abb. 5.1, 5.2, S. 64) im MoL-Serum im Vergleich zum Es-Zusatz zu erkennen.

Die Ausreifung in den Ansätzen mit Es-Zusatz ist im Gegensatz dazu schneller (Abb. 5.1, 5.2, 5.3, S. 64, 65; Tab. 4, S. 147). Der G/E-Index steigt, wie in den 3-Tage-Koagulumkulturen beschrieben, als Zeichen der Ausreifung der Erythropoese bis zum Erythrozyten am 3. Tag deutlich an (Abb. 5.14, S. 71; Tab. 7, S. 148). Die absolute Erythroblastenvermehrung am 1. Tag korreliert mit der Zunahme des Ebl-Mitoseindex.

Vom 5. Tag an ist in beiden Ansätzen ein unterschiedliches Verhalten der am Ebl-Mitoseindex gemessenen Regeneration (Abb. 5.4, S. 66; Tab. 1, S. 146) zu beobachten:

- In den Kulturen mit Es-Zusatz scheint der Stimulatorengehalt nahezu erschöpft zu sein, so daß es hier in allen Fällen zu einem deutlichen Rückgang der Regenerationsaktivität kommt (Abb. 1.3, 2.3, 3.3, 4.3, 5.4, S. 35, 42, 49, 56, 66; Tab. 1, S. 146). So sind am 10. Tag keine Mitosen mehr zu sehen. Ähnliche Beobachtungen wurden in der Literatur beschrieben (120, 123, 311, 346).

Alternativ dazu ist eine Zunahme von Inhibitoren aus reifen Erythrozyten zu diskutieren, welche ihrerseits die weitere Regeneration hemmen könnten.

- In den Kulturen mit MoL-S-Zusätzen kommt es im Gegensatz dazu am 5. Tag zu einem zweiten Regenerationsschub mit starkem Anstieg des mittleren Ebl-Mitoseindex und einer Zunahme des Anteils der Proerythroblasten an der Erythropoese (Abb. 5.4, S. 66; Tab. 1, S. 146. Abb. 5.2, S. 64). Damit sind vom 5. Tag an die Mitoseindices in diesen Versuchen durch die MoL-S-Zusätze deutlich, wegen der geringen Mitosezahl allerdings nicht signifikant, erhöht.

Betrachtet man den Verlauf der Ebl-Reifungsindices, so setzt sich die erwähnte Tendenz zur Angleichung der Werte in Es und MoL-Serum auch nach dem 3. Tag fort (Abb. 5.3, S. 65; Tab. 4, S. 147). Jedoch kann nach dem 3. Tag der Ebl-Reifungsindex nicht mehr als alleiniges Maß für die Ausreifungshemmung herangezogen werden, da sich infolge der Zunahme des Mitoseindex zwei antagonistische Effekte auf den Ebl-Reifungsindex überlagern. Auf der einen Seite steht die Aktivitätsverminderung des reifungshemmenden Faktors, welche zu einer Abnahme des Ebl-Reifungsindex führt. Zum anderen ist ein Anstieg des Ebl-Mitoseindex am 5. Tag zu beachten. Er kann durch den Rückgang der Reifungshemmung bei unverändert stimulierter Regeneration zustande kommen, wobei dann der prozentuale Anteil der reifen gegenüber dem der polychromatischen Erythroblasten abnehmen müßte. Die starke und plötzlich einsetzende Erhöhung des Mitoseindex läßt aber eher an einen 2. Regenerationsschub denken, zumal der prozentuale Anteil der Proerythroblasten an der Gesamterythroblastenzahl vom 3. zum 5. Tag erneut ansteigt (Abb. 5.2, S. 64). Somit dürfte das Fortbestehen der Erhöhung des Ebl-Reifungsindex in der zweiten Hälfte der Inkubationszeit durch eine vermehrte Regeneration zumindest mitbedingt sein.

Gegen Ende der Inkubationsdauer nehmen auch bei MoL-S-Zusatz sowohl Regenerationsaktivität (Abb. 5.4, S. 66; Tab. 1, 146) als auch absolute Zellzahlen (Abb. 5.1, S. 64) ab, der Grad der Ausreifung nimmt dagegen zu (Abb. 5.2, 5.3, S. 64, 65). Gleichzeitig zeigen sich Zeichen einer verstärkten Zelldegeneration in beiden Ansätzen.

Als mögliche Ursache ist neben einem mangelnden Angebot an Nährstoffen und Sauerstoff eine Konzentrationszunahme toxischer Metaboliten zu erwägen. Auch ein mit der Inkubationszeit abnehmender Erythropoetiningehalt durch Verbrauch

bzw. Inaktivierung wäre möglich (222), eine Aktivitätsverminderung oder ein Verbrauch dieses Hormons wurde jedoch von anderen Autoren nicht festgestellt (160,173).

Eine Konzentrationsabnahme inhibierender, niedermolekularer Faktoren aus reifen Erythrozyten, sog. Erythrozytenchalone, wie für die normale Erythropoese beschrieben, stellt eine andere mögliche Ursache für die oben erwähnte Verminderung der Zellzahlen und der Regenerationsaktivität dar (s.a. S. 9). Solche Faktoren hemmen die Proliferation erythropoetischer Zellen im Knochenmark von Mäusen sowohl in vitro (11,12,169,170,195,240,246,247) als auch in vivo (195). Dies geschieht durch Verlängerung der  $G_1$ -Phase des Zellzyklus (195). Die hohe Zelldichte von ca.  $2 \times 10^6/\mu l$  und der fehlende Medienwechsel bei der Suspensionskulturmethode nach BOLL (s.S. 26) könnten zur Anreicherung solcher Inhibitoren im Medium führen.

Zusammenfassend bleibt festzustellen, daß nach den hier vorliegenden Ergebnissen die Erythropoese durch Faktoren in den beiden Mol-Seren an allen Tagen vermehrt ist. Diese Faktoren üben, neben einer Stimulation der Regeneration, auf die Ausreifung der Erythroblasten eine hemmende Wirkung aus, welche am 1. Tag ihr Maximum erreicht, um dann stetig abzunehmen. Ein erneuter Regenerationsschub ist bei Mol-S-Zusatz am 5. Tag zu beobachten. Dieser könnte durch den Rückgang der Ausreifungshemmung und der dadurch bedingten Abnahme des Anteils teilungsfähiger Erythroblasten an der Gesamterythroblastenzahl bei unverändert stimulierter Regeneration erklärt werden. Es ist aber auch die Möglichkeit der Existenz eines zweiten Stimulators in den hier verwendeten Mol-Seren zu diskutieren, dessen Wirkung unter den Bedingungen des hier angewendeten Kulturverfahrens erst am 5. Tag in Erscheinung tritt.

#### 4.2.1.1 Diskussion der eigenen Ergebnisse im Vergleich zu denen anderer Autoren

Als Stimulator der Erythropoese kommt in Anbetracht der ausgeprägten Anämie beider Serumpender (Hb: 8,3 bzw. 8,7; Hkt: 23,6 bzw. 27,2) an erster Stelle ein erhöhter Erythropoetiningehalt in Frage. Eine Korrelation zwischen dem Grad der Anämie, gemessen am Hb-Gehalt bzw. Hämatokrit, und dem Erythropoetinspiegel in Serum bzw. Urin (16,113,245,277), und damit ein bei akuten und chronischen Leukämien erhöhter Erythropoetiningehalt des Serums, ist entsprechend in der Literatur beschrieben (89,115,162,341,351).

Erythropoetin wird nicht nur in den Nieren gebildet, auch extrarenale Quellen sind beschrieben (s. S. 6). So sind u.a. stimulierte Zellen des Monozyten-Makrophagen-Systems in der Lage, sowohl im Tierversuch als auch im menschlichen Knochenmark, Erythropoetin abzugeben (280 - 282, 348). Auf der anderen Seite potenziert das von Makrophagen außerdem abgegebene Prostaglandin E (s.S. 12) im Tierversuch die Wirkung des Erythropoetins auf die Zellen der Erythropoese (91). Da es sich bei beiden Serumspendern um Fälle monozytärer Leukämien mit einem hohen Prozentsatz monozytärer Zellen sowohl im Knochenmark als auch im Blut handelt, ist auch eine ursächliche Beteiligung des Monozyten-Makrophagen-Systems an der hier beobachteten Stimulation normaler Erythroblasten *in vitro* zu diskutieren.

Bei alleiniger Erythropoetinwirkung wäre allerdings nach dessen Wirkungscharakteristik eine Proliferationssteigerung der Erythropoese mit Stimulation sowohl der Regeneration als auch der Reifung zu erwarten (34,95,102,132). Da es sich in den vorliegenden Versuchen um normales Knochenmark mit *in autologem* Serum ungestörter Ausreifung handelt, scheint in den verwendeten MoL-Seren ein weiterer, möglicherweise die Ausreifung hemmender Faktor wirksam zu werden.

Humorale Serumfaktoren mit Wirkung auf die Erythropoese bei myeloischen Leukämien sind bisher wenig untersucht. Die in der Literatur beschriebenen, von menschlichen Leukämiezellen abgegebenen Inhibitoren der Erythropoese hemmen das Wachstum der erythropoetisch determinierten Stammzellen (72,74,317). Über ihre Wirkung auf den Proliferations- und Reifungsspeicher ist nichts bekannt. Solche Inhibitoren werden auch für die Verdrängung der Erythroblasten im Knochenmark mitverantwortlich gemacht, die bei myeloischen Leukämien häufig zu beobachten ist (115,140,318). Obwohl es sich jeweils um Finalzustände akuter Leukämien handelt, liegt bei beiden Spendern der in dieser Untersuchung verwendeten Seren ein nahezu normales Verhältnis von Granulopoese zu Erythropoese vor (G/E-I.: 4,6 bzw. 5,4), und die Proliferation normaler Erythroblasten *in vitro* ist durch die MoL-Seren insgesamt stimuliert. Die o. g. Inhibitoren scheinen jedoch insgesamt die Proliferation von Erythroblasten zu hemmen, so daß die Mitwirkung an der hier beobachteten Proliferationssteigerung *in vitro*, im Sinne einer selektiven Hemmung der Ausreifung, wenig wahrscheinlich ist.

Eine in diesem Zusammenhang stehende Untersuchung beschreiben STEINBERG et al. (318), die in Diffusionskammer-Versuchen eine dosisabhängige Suppression

und Stimulation des Wachstums erythropoetischer Kolonien des normalen Ratten-Knochenmarks durch diffusible Substanzen im Serum von Ratten mit einer AML fanden. Die Proliferation erythropoetischer Vorstufen war dabei sowohl im Anfangs- als auch im Endstadium der Erkrankung gehemmt. Im Mittelstadium dagegen war eine 350 %ige Stimulation der Erythropoese zu verzeichnen, die auf eine Wirkung von Erythropoetin zurückgeführt wurde.

Eine zweite Interpretationsmöglichkeit des beobachteten Proliferationsschubes nach 24 Stunden *in vitro* ist die Annahme eines Faktors, der die späte Erythropoese stimuliert und in den MoL-Seren in verminderter Konzentration neben Erythropoetin vorkommt. Kürzlich wurde mit dem "erythroblast enhancing factor" (EEF) von KRYSTAL et al. ein solcher Faktor im Serum von Gesunden beschrieben, welcher im Knochenmark von Mäusen im Vergleich zu Erythropoetin stärker die Differenzierung des postmitotischen Erythroblasten-Pools stimuliert (176,177). Die biologischen und chemischen Eigenschaften dieses Faktors sind allerdings noch zu wenig untersucht, um daraus gültige Aussagen ableiten zu können. Über sein Vorkommen oder seine Bedeutung bei hämatologischen Erkrankungen ist ebenfalls noch nichts bekannt. Ein Faktor mit ähnlichen Eigenschaften wurde von anderen Autoren auch im Serum von Ratten nachgewiesen (329).

Als Ursache der beobachteten Proliferationssteigerung der Erythropoese ist neben der erhöhten Konzentration von Stimulatoren in den MoL-Seren aber auch an eine verminderte Konzentration der im normalen Serum vorkommenden Inhibitoren (s.S. 9) bei akuten monozytären Leukämien zu denken. Solche Inhibitoren werden sowohl von reifen Erythrozyten (11,12,169,170,194,195,240,246,292,313) als auch von segmentkernigen Granulozyten (74,143) freigesetzt. Sie könnten, bedingt durch die beschriebene Reifungsstörung der Erythropoese und der Granulopoese der Serumpender und der daraus resultierenden starken Anämie sowie durch den verminderten Anteil "normaler" Segmentkerniger im peripheren Blut, vermindert sein.

Für den in MoL-Seren am 5. Tag beobachteten Proliferationsschub normaler erythropoetischer Zellen bieten sich mehrere Interpretationsmöglichkeiten an:

1. könnte es zu einer erneuten Aktivitätszunahme von Faktoren kommen, welche den Proliferationsspeicher stimulieren (z.B. Erythropoetin). Denkbar wäre beispielsweise eine Freisetzung von Erythropoetin aus Makrophagen *in vitro* (s. S. 6), deren absolute und relative Zahl vom 5. Tag an bei MoL-S Zusatz deutlich über den Werten bei autologem Serumzusatz liegt. (Abb. 5.11, 5.12, S. 70)
2. könnte die Existenz eines Stimulators in den MoL-Seren diskutiert werden, dessen Auswirkungen unter den Bedingungen der Suspensionskulturmethode erst am 5. Tag sichtbar werden.

Die "burst promoting activity" (BPA) (s. S. 8) stimuliert z.B. die Proliferation der erythropoetisch determinierten Stammzellen im menschlichen Knochenmark in Methylzellulose- und Agarkulturen (73,136,257,258). Diese BFU-E und eine weitere Differenzierungsstufe, die sog. "intermediate-BFU-E", reifen in Anwesenheit von Erythropoetin zu Erythroblasten aus (s. S. 7). Dieser Reifungsprozeß beansprucht einen Zeitraum, welcher mit dem bis zum Auftreten des zweiten Regenerationsschubes in den eigenen Versuchen vergleichbar ist (136, 257). So zeigt sich bei MoL-S-Zusatz am 5. Tag ein erneuter Anstieg der Ebl-Mitoseindices, der Anteil der Proerythroblasten an der Erythropoese erreicht seinen maximalen Wert und in der abfallenden Reifungskurve entsteht am 5. Tag eine "Schulter".

Auch in einer der CML-Blutkulturen (Versuch V) treten am 4. Tag Gruppen von Proerythroblasten auf, wobei sogar zwei Mitosen zu beobachten sind (s. S. 73). Auch die Gesamtzahl der Erythroblasten nimmt zu (Abb. 6.1, S. 74). Quellen der BPA könnten u.a. wieder die monozytären Zellen sein (138,139,225,244,352, 353), so daß ein Zusammenhang zwischen der Zunahme des Makrophagenanteils am 5. Tag und dem zweiten Proliferationsschub zu diskutieren ist.

Ein vergleichbarer Proliferationsschub wurde von SCHNURRBUSCH (311) bei Zusatz von 100 % Eigenserum zu normalem Knochenmark *in vitro* beobachtet, nicht allerdings bei nur 40 %iger Konzentration. Interessanterweise traten in den Ansätzen mit dem höheren Eigenserumanteil auch vermehrt Makrophagen auf.

Auch WOOD sah in Suspensionskulturen menschlicher Knochenmarkszellen mit Zusatz von 50 % Eigenserum einen zweiten Proliferationsschub um den 5. Kulturtag in den Fällen, in denen Erythropoetin in einer Konzentration von 0,3 U/ $\mu$ l zugesetzt wurde. Im Gegensatz zur Suspensionskulturmethode nach BOLL wurde jedoch ein 48-stündlicher Medienwechsel durchgeführt (346).

Über den BPA-Gehalt bei hämatologischen Erkrankungen gibt es leider bislang nur wenig Erkenntnisse. Lediglich eine erhöhte BPA-Konzentration in Seren anämischer Mäuse ist beschrieben (255). Über Veränderungen der BPA-Konzentration im Serum bei akuten myeloischen Leukämien ist dagegen nichts bekannt.

Neben der BPA wird von einigen Autoren auch dem "colony-stimulating factor" CSF (s. S. 10 ff.), bisher allerdings lediglich im Tierversuch, eine stimulierende Wirkung auf die Proliferation in der Erythropoese zugeschrieben (213, 214, 249). Da sich diese Wirkung nur auf die Zellen des Stammzellspeichers zu erstrecken scheint, ist eine Mitwirkung des CSF an der Stimulation der Erythropoese nach 24 Stunden wenig wahrscheinlich. Sie muß jedoch als Ursache des zweiten Proliferationsschubes am 5. Tag mit in Erwägung gezogen werden. Eine vollständige Trennung des CSF von der o.g. BPA gelang allerdings bislang nicht, so daß beide Faktoren möglicherweise identisch sind (1,64,156).

#### 4.2.1.3 Vergleich der Proliferation in vivo und in vitro

Während die Erythropoese im Knochenmark bei akuten Leukämien in der Regel stark zurückgedrängt und der Erythroblasten-Mitoseindex bzw. Markierungsindex normal oder vermindert ist (28,30,153,274,295), zeigen beide hier untersuchten Patienten mit AMoL bzw. AMMoL eine zahlenmäßig nahezu normale Erythropoese sowie einen erhöhten Mitoseindex im Knochenmark. In diesem Zusammenhang stellte SJÖGREN (299,304) im Knochenmark von Patienten mit AML einschließlich AMoL eine signifikante Zunahme der Erythroblasten-Mitoseindices, eine Linksverschiebung in der Differentialverteilung der Erythropoese und megaloblastoide Zellveränderungen fest. Der prozentuale Anteil der Erythropoese variiert dabei von 3 - 26 %, entsprechend einem G/E-Index von 32 - 3,2. BOLL beschreibt ähnlich bei Patienten mit AML eine Linksverschiebung der Erythropoese mit deutlich erhöhtem Mitoseindex in der Gruppe der Proerythroblasten, bei allerdings leicht vermindertem Gesamt-Mitoseindex. Der mittlere G/E-Index liegt mit 70,9 sehr hoch (28). SJÖGREN interpretiert seine Befunde im Sinne einer ineffektiven

Erythropoese bei AML, die auch von anderen Autoren (86,150,202) und bei anderen myeloproliferativen Erkrankungen beschrieben wurde (303,305,306,228, 273). Die Linksverschiebung wird dabei auf einen Reifungsdefekt auf der Ebene des polychromatischen Erythroblasten zurückgeführt und als Zeichen der Abstammung auch der erythropoetischen Zellen von einer leukämischen Stammzelle angesehen (42,202,299,304). Der klonale Ursprung auch der erythropoetischen Zellen bei myeloischen Leukämien wurde durch Chromosomenmarker-Studien (22, 163,164) und Untersuchung von Isoenzym-Verteilungsmustern der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (18,344) zumindest für einen Teil der Fälle bestätigt. Auch monozytäre Leukämien zeigen häufig Veränderungen der Erythropoese (178, 190,207,293,298).

In den hier vorliegenden Untersuchungen stehen die Differentialverteilung mit erhöhtem Anteil basophiler Erythroblasten und der gegenüber der Norm erhöhte mittlere Ebl-Mitoseindex im Knochenmark beider Serumspender in Übereinstimmung mit den von SJÖGREN und BOLL beobachteten Ergebnissen. Zusätzlich zeigt sich eine Stimulation der normalen Erythropoese bei gleichzeitiger Behinderung der Ausreifung durch die MoL-Seren. Dies läßt vermuten, daß in beiden Fällen sowohl die Proliferationssteigerung der normalen Erythropoese in vitro als auch der relativ hohe Anteil der Erythropoese beider Serumspender in vivo durch humorale Faktoren mitbedingt ist. Allerdings fällt auf, daß die Ebl-Mitoseindices des normalen Knochenmarks durch die MoL-S-Zusätze erst nach 5 Tagen stärker stimuliert sind als durch die autologen Serumzusätze, obwohl die Ebl-Mitoseindices beider Leukämieserum-Spender in vivo deutlich erhöht sind. Bei der Interpretation dieser Diskrepanz ist zu bedenken, daß in vitro die Einflüsse des "microenvironment" ausgeschaltet sind (81,229). Außerdem handelt es sich in vivo um pathologisches Knochenmark. So wäre es möglich, daß, ähnlich wie in der Granulopoese (37,43,44), auch in der Erythropoese der Mitoseablauf gestört ist, und gehäuft Endomitosen vorkommen. Dies müßte nach BOLL (37,43) zu einer Vermehrung der Prophasen und frühen Metaphasen führen. Tatsächlich ist bei beiden Serumspendern zumindest eine Vermehrung der Prophasen zu beobachten, wenngleich die Zahl der Mitosen natürlich für statistische Aussagen zu gering ist. Die tatsächliche Anzahl der Zellverdopplungen wäre damit geringer als der Mitoseindex vorgibt. Dies bietet eine Erklärungsmöglichkeit für die Diskrepanz zwischen dem Mitoseindex der Serumspender in vivo und denen des normalen Knochenmarks in vitro.

#### 4.2.2 Granulopoese

##### 4.2.2.1 Diskussion der eigenen Ergebnisse

In der Granulopoese kommt es durch die MoL-S-Zusätze in allen Versuchen zu einem erheblichen Anstieg der Granuloblasten-Mitoseindices (Gbl-MI) über die gesamte Beobachtungsdauer (Abb. 1.6, 2.6, 3.6, 4.6, S. 37, 44, 51, 58; Tab. 2, S. 146). Der Mittelwert aller vier Versuche mit Knochenmarkzellen erreicht dabei sein Maximum am 3. Tag mit über 200 % des Wertes bei autologem Serumzusatz (Tab. 2 + 2.1, S. 146). Insgesamt ist er bis zum 8. Tag in allen Stichproben signifikant, am 1. und 3. Tag sogar hochsignifikant, erhöht (Tab. 8, S. 149).

Da die karyologische Kurve durch die MoL-S-Zusätze nicht verändert wird (Abb. 5.10, S. 69), kann angenommen werden, daß dem erhöhten Gbl-Mitoseindex eine vermehrte Mitosehäufigkeit und somit eine verstärkte Regeneration in der Granulopoese zugrunde liegt (43).

Sind auch die Reifungsindices nach Bock (23) für beide Ansätze nach 24 Stunden nahezu identisch (Abb. 5.8, S. 68; Tab. 5, S. 147), spricht die relative Verminderung der Stabkernigen und Zunahme der Segmentkernigen (Abb. 5.7, S. 67) doch für eine leichte Reifungsförderung durch die MoL-S-Zusätze. Dies auch deshalb, weil der Promyelozytenanteil an der Granulopoese im Mittel aller Versuche bei deutlich stimulierter Regeneration vermindert ist (Abb. 5.7, S. 67).

Im weiteren Verlauf ist die Ausreifung nach Reifungskurven und Gbl-Reifungsindices in beiden Ansätzen bis zum 5. Tag nahezu identisch (Abb. 5.6 - 5.8, S. 67, 68; Tab. 5, S. 147). Im Hinblick auf die weiterhin stimulierte Regeneration (Abb. 5.9, Tab. 2, S. 69, 146) spricht der unveränderte Verlauf der Reifungskurven und Reifungsindices jedoch für eine Stimulation auch der Ausreifung durch die MoL-S-Zusätze. Somit besteht eine Kopplung von Regeneration und Reifung, wie sie von BOLL und anderen Autoren mehrfach beschrieben wurde (43,44,40,33,254). Eine alleinige Stimulation der Regeneration bei unveränderter Ausreifung müsste zu einer Vergrößerung des Proliferationspools führen.

Gegen Ende der Beobachtungsdauer verstärkt sich durch die MoL-S-Zusätze bei immer noch sehr hohen Gbl-Mitoseindices die Tendenz zur Ausreifung (Abb. 5.7, 5.8, S. 67, 68; Tab. 5, S. 147). Sie erreicht am 8. und 10. Tag statistisch hochsignifikante Werte (Tab. 11, S. 150).

Die mittleren G/E-Indices (Abb. 5.14, S. 71; Tab. 7, 148) sinken nach 24 Stunden in beiden Ansätzen, als Zeichen einer Proliferation in der Erythropoese und einer Degeneration der mit in Kultur gesetzten Segmentkernigen (38, 41). Auch der Rückgang der Stabkernigen infolge ihrer Ausreifung zu Segmentkernigen, wie er ebenfalls von BOLL und MERSCH beobachtet wurde (38), trägt dazu bei. Nachfolgend steigen die G/E-Indices in beiden Ansätzen als Zeichen der Ausreifung der Erythroblasten zu Erythrozyten und einer Stimulation der Granulopoese deutlich an (42). Der Anstieg verläuft allerdings in den Kulturen mit MoL-S-Zusätzen hochsignifikant flacher als im autologen Serum, was wie erwähnt hauptsächlich auf der starken Stimulation der Erythropoese durch die Leukämieseren beruht (s. S. 97). Dabei scheint die stimulierende Wirkung des AMoL-Serums (Versuche I + II) schwächer ausgeprägt zu sein als die des AMoL-Serums (Versuche III + IV) (s. Tab. 2.1, S. 146; Abb. 1.6, 2.6, 3.6, 4.6, S. 37, 44, 51, 58).

Setzt man die oben beschriebenen Ergebnisse über die relative Verteilung der Reifungsklassen der Granulopoese in Relation zum Verlauf der absoluten Zellzahlen fällt auf, daß der erhöhten Regeneration lediglich am 5. Tag eine leichte Zunahme der absoluten Zahl granulopoetischer Zellen entspricht (Abb. 5.6, S. 67). Am 1. Tag ist durch die MoL-S-Zusätze nur die Granuloblastenzahl erhöht, die Zahl der Granulozyten, insbesondere der Anteil der Stabkernigen, als Zeichen der Reifungsförderung dagegen vermindert (Abb. 5.7, S. 67). Daraus resultiert eine insgesamt gleiche Zahl granulopoetischer Zellen in beiden Ansätzen. An allen anderen Tagen, insbesondere am 8. und 10. Tag, liegt die Zahl der Granuloblasten und Granulozyten in den Ansätzen mit MoL-S-Zusätzen niedriger als bei autologem Serumzusatz. Die Ursache dafür ist möglicherweise in einer verstärkten Zelldegeneration infolge der Einwirkung toxischer Substanzen zu suchen oder aber Folge einer verkürzten Lebensdauer der Segmentkernigen durch die beschleunigte Ausreifung (63). Tatsächlich finden sich vom 5. Tag an besonders in den Kulturen mit MoL-S-Zusätzen zunehmend Zeichen der Zelldegeneration (s. S. 31).

Zu ähnlichen Ergebnissen kommt SCHNURRBUSCH bei Zusatz autologen Serums in unterschiedlichen Konzentrationen zu normalem Knochenmark mit dem gleichen Kulturverfahren (311). Er findet bei Zusatz von 100 %igem autologen Serum, insbesondere gegen Ende der Beobachtungsdauer von 10 Tagen, eine Verminderung der Granulopoese trotz einer teilweise signifikanten Regenerationssteigerung, im Vergleich zum Zusatz von nur 40 %igem autologen Serum. Weiterhin beobachtet

er in den Kulturen mit 100 % Eigenserumzusatz ein vermehrtes Makrophagenaufkommen.

In den eigenen Versuchen kommt es in ähnlicher Weise in den Ansätzen mit verstärkter Regeneration zu einer Vermehrung des Makrophagenanteils, wenn man die Beobachtungen aus den Versuchen mit autologem Serumzusatz zum Vergleich heranzieht (Abb. 5.12, S. 70; Tab. 13, S. 151). Somit wird auch die Monopoese durch die MoL-S-Zusätze deutlicher stimuliert als durch die jeweiligen autologen Serumzusätze (Abb. 5.13, S. 71; Tab. 14, S. 152).

Bei weitergehender Betrachtung der Monopoese findet sich in den hier vorliegenden Untersuchungen besonders nach 24 Stunden im Mittel aller 4 Versuche mit Knochenmark eine signifikante bis hochsignifikante Zunahme der Promonozyten und Monozyten durch die MoL-S-Zusätze (Tab. 12, S. 151; Abb. 5.6, S. 67). Bei Berücksichtigung des prozentualen Anteils der Promonozyten und Monozyten an der Granulopoese wird dieser Anstieg noch deutlicher (Abb. 5.7, S. 67). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen NIEDERDRAING und KARL mit CMoL- und CMMoL-Seren (166,251).

Im weiteren zeitlichen Ablauf nimmt die Zahl der Promonozyten und Monozyten wieder ab, sie liegt jedoch bis zum 5. Tag für die Mittelwerte aller Versuche signifikant über den Werten bei autologem Serumzusatz (Abb. 5.6, 5.7, S. 67; Tab. 12, S. 151). Die Verläufe sind dabei in allen Versuchen ähnlich. Eine Ausnahme bildet lediglich der Versuch II am 1. Tag. Der Zunahme der Promonozyten und Monozyten entspricht eine verstärkte monozytäre Regeneration bei MoL-S-Zusätzen (Tab. 3, S. 147).

Am 8. und 10. Tag vermindert sich der Promonozyten- und Monozytenanteil in den Ansätzen mit MoL-S-Zusätzen um signifikante Werte (Tab. 12, S. 151). Dieser auf den ersten Blick erstaunliche Befund erklärt sich aus einer verstärkten Ausreifung dieser Zellen zu Makrophagen (39,224,330), deren absolute und relative Zahl vom 5. Tag an bei MoL-S-Zusatz tatsächlich über den Vergleichswerten liegt (Abb. 5.12, S. 70). Möglicherweise trägt auch die Teilung von Makrophagen, welche in der Literatur beschrieben ist (39,343,311) und hier in gleicher Weise vereinzelt beobachtet wurde, ebenfalls zu der starken Vermehrung der Makrophagen gegen Ende der Inkubationszeit bei.

Die Betrachtung aller monozytären Zellen einschließlich der Makrophagen ergibt entsprechend, wie anhand der Mo/G-Indices ersichtlich (Abb. 5.13, S. 71), durch die MoL-S-Zusätze eine hochsignifikante Vermehrung der monozytären Zellen an allen Tagen (Tab. 14, S. 152). Diese Vermehrung ist in der ersten Hälfte

der Inkubationszeit auf die Zunahme unreifer monozytärer Zellen, später dagegen auf die entsprechende Zunahme der Endprodukte der Monozytenausreifung, der Makrophagen, zurückzuführen.

Bei den oben aufgeführten Untersuchungen von NIEDERDRÄING und KARL werden als monozytäre Zellen nur die Promonozyten und Monozyten berücksichtigt. Eine Hinzunahme der Makrophagen als Ausreifungsprodukte der Monozyten erscheint jedoch hier erforderlich, da es sich im Gegensatz zu den Untersuchungen von NIEDERDRÄING und KARL um Langzeitversuche handelt.

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, daß in den verwendeten MoL-Seren (AMMoL und AMoL) offenbar Faktoren wirksam werden, welche die Regeneration und Reifung sowohl der Granulopoese als auch der Monopoese stimulieren.

#### 4.2.2.2 Diskussion der eigenen Ergebnisse im Vergleich zu denen anderer Autoren

Mit Hilfe von in-vitro-Versuchen kann nachgewiesen werden, daß Serumzusatz zum Medium die Proliferation normaler myeloischer Knochenmarkszellen beeinflußt. Dabei fällt auf, daß der Mitoseindex im Knochenmark solcher Serumspender mit nicht-leukämischen Erkrankungen mit der Regeneration und z.T. auch der Reifung in vitro positiv korreliert (32,35). In der Gruppe der akuten nicht-lymphatischen Leukämien sind die Granuloblasten-Mitoseindices in der Regel erniedrigt (43,168,300,301,86), aber auch Fälle mit im Vergleich zu normalem Knochenmark erhöhten Mitoseindices sind beschrieben (43,302). Der Gbl-Mitoseindex von Leukämien mit monozytärer Beteiligung ist dabei z.T. signifikant höher als der anderer myeloischer Leukämieformen (300,302). Versuche mit Zusätzen von Seren nicht-lymphatischer Leukämien mit in vivo erniedrigten Gbl-Mitoseindices (AML, CML-Blastenkrise) zeigen eine Verminderung der Regeneration normaler Knochenmarkszellen in vitro, stellt man sie der Kultivierung mit autologem Serumzusatz zum Medium gegenüber (32,101). Die Hemmung der Proliferation in vitro korreliert auch hier mit dem in-vivo-Mitoseindex im Knochenmark der Serumspender. Das Serum des Patienten mit dem niedrigsten Mitoseindex in vivo (CML-Blastenkrise) zeigt die stärkste Hemmwirkung auf normales Knochenmark in vitro und umgekehrt die AML-Seren mit einem weniger stark verminderten Mitoseindex in vivo die schwächere Hemmwirkung. Dies wird von den Autoren jeweils auf unterschiedliche Inhibitorenkonzentrationen in den betreffenden Seren zurückgeführt. CMoL-Serum dagegen zeigt diese Regenerationsverminderung trotz des in vivo erniedrigten Gbl-Mitoseindex nicht (251).

Gefroren-aufgetaute CML-Seren bilden insofern eine Ausnahme, als sie trotz des in vivo verminderten Mitoseindex die Proliferation normaler Knochenmarkszellen in vitro stimulieren (32,199,230,307). Dies ist nach Ansicht der Autoren auf das gleichzeitige Vorhandensein eines gefrierresistenten Stimulators und eines gefrierempfindlichen Inhibitors zurückzuführen.

Beide Patienten mit AMoL bzw. AMMoL, deren Seren hier verwendet wurden, haben im Gegensatz zu den oben erwähnten einen in vivo erhöhten Gbl-Mitoseindex. Ihre Seren stimulieren, wie schon die entsprechenden nicht-leukämischen Seren, die Regeneration und sogar die Reifung der normalen menschlichen Granulopoese signifikant und z. T. sogar hochsignifikant, wenn man sie mit der Kultivierung im autologen Serum vergleicht (Abb. 5.6 - 5.9, S. 67 - 69; Tab. 8, 11, S. 149, 150).

REISNER beschreibt ebenfalls eine stimulierende Wirkung zweier von 5 AML-Seren auf die Proliferation normaler menschlicher Knochenmarkszellen in einer physiologischen Salzlösung mit 20 % Serumzusatz, gibt aber leider keine in-vivo-Mitoseindices an (279).

Auch mit Hilfe anderer Kulturmethoden wie der Agarkultur- und der Diffusionskammermethode wurden überwiegend hemmende Wirkungen von Seren (227,309), Zellen (146,124,128,149,110,171,72,208,226,262,263,275,276,241,284,135) und konditionierten Medien (57,71,72,79) akuter nicht-lymphatischer Leukämien auf die Proliferation normaler Zellen beobachtet. Die beschriebenen hemmenden Wirkungen werden entweder auf vorhandene Inhibitoren oder auf einen Mangel an Stimulatoren zurückgeführt. Andere Autoren finden keine signifikante Beeinflussung (124,201,296) oder beschreiben auch stimulierende Wirkungen (19,128, 149,227,237).

Damit stellt sich die Frage nach der Natur der in den eigenen Versuchen wirkenden Stimulatoren.

Der heute am gründlichsten untersuchte Stimulator der Granulo- und Monopoese in vitro ist der "colony-stimulating factor" (CSF), von anderen Autoren auch als "macrophage-granulocyte inducer" (MGI) oder "colony-stimulating activity" (CSA) bezeichnet (s. S. 10 ff). Für seine in-vivo-Bedeutung als sog. Granulopoetin liegen zwar Hinweise vor (97,217,220,236), eindeutige Beweise stehen aber z.Zt. noch aus. CSF stimuliert sowohl die Regeneration als auch die Reifung granulopoetischer Zellen (66,68,217). Beides wurde in der hier beschriebenen Versuchsreihe auch beobachtet. Die CSF-Abgabe durch Blut- und Knochenmarkszellen akuter Leukämien mit monozytärer Komponente ist höher als

die anderer nicht-lymphatischer Leukämieformen und übertrifft z.T. die der normalen Blut- und Knochenmarkzellen (19,124,128,134,146,148,149). Auch die Urinausscheidung des CSF ist bei AMoL und AMMoL (20) im Gegensatz zur AML (285) erhöht. Eine Ausnahme bilden die Monoblasten bei AMoL im Kindesalter, welche CSF nicht produzieren können (342). Somit ist CSF an erster Stelle der möglichen Stimulatoren zu nennen, welche für die hier beobachteten Wirkungen in Frage kommen.

Einen erhöhten CSF-Gehalt im Serum bei CMoL vermuten auch STERRY und andere (320,33,36), da die Proliferation von CMoL-Knochenmarkzellen bei Kultivierung mit 40 %igem autologen Serumzusatz im Suspensionskulturverfahren durch den Zusatz von Granulozyten-Chalon, im Gegensatz zur Proliferation normaler Knochenmarkzellen, nicht gehemmt wird.

In Seren entzündlicher Leukozytosen oder nach Endotoxingabe ist der CSF-Gehalt nach Untersuchungen in Agarkulturen ebenfalls erhöht (147,121,231,217,141). Derartige Seren stimulieren, ähnlich den hier verwendeten MoL-Seren, sowohl die Regeneration als auch die Reifung normaler Knochenmarkzellen in Koagulumkulturen (32,35,41,118). Dies legt ebenfalls die Vermutung nahe, daß es sich bei dem hier beobachteten Stimulator am ehesten um CSF handelt. Eine eindeutige Klärung erscheint jedoch solange schwierig, wie kein reines CSF mit Wirkung auf menschliche Zellen zur Verfügung steht.

Geht man davon aus, daß in den hier verwendeten Seren ein erhöhter CSF-Gehalt vorliegt, so zeigen die Ergebnisse, daß CSF in der ersten Hälfte der Inkubationszeit vor allem die Regeneration und nur in geringerem Maße die Reifung stimuliert. Erst später tritt die Reifung dieser angeregten Granuloblasten in Erscheinung. Somit besteht die CSF-Wirkung in der zweiten Hälfte der Kulturzeit überwiegend in einer Reifungsbeschleunigung im postmitotischen Pool, die auch in der Literatur beschrieben ist (217,66,68). Zu der Verminderung der Zahl teilungsfähiger Granuloblasten gegen Ende der Inkubationszeit mag auch eine Verschlechterung der Kulturbedingungen beitragen. Wegen des fehlenden Medienwechsels kommt als Ursache dafür, neben zahlreichen unspezifischen Faktoren wie Substratmangel, Anhäufung toxischer Stoffwechselprodukte  $O_2$ -Mangel usw., ein durch Zunahme von Inhibitoren aus reifen Zellelementen der granulozytären oder monozytären Reihe bedingter Rückgang der CSF-Aktivität in Frage (s. S. 12 ff). Geringer werdender Nachschub aus dem mitotischen Pool und verstärkte Ausreifung im postmitotischen Pool führen nach diesen Vorstellungen zu der am 8. und 10. Tag hochsignifikanten Zunahme des Granulozytenanteils auf Kosten des Granuloblastenanteils an der Granulopoese.

CSF stimuliert ebenfalls die Monopoese (s. S. 11) und kommt daher als Ursache der auch in den eigenen Versuchen beobachteten Vermehrung monopoetischer Zellen in Frage.

Entsprechende Untersuchungen anderer Autoren mit Seren monozytärer Leukämien zeigen zwar nicht die hier beobachteten stimulierenden Wirkungen auf die Regeneration und Reifung der Granulopoese, bestätigen jedoch die Stimulation der Monopoese. So beschreibt NIEDERDRÄING in einem ähnlichen Versuchsansatz bei unveränderter Regeneration eine Hemmung der Reifung in der normalen und CML-Granulopoese in vitro durch Zusatz von CMoL-Serum in ebenfalls 40 %iger Konzentration, aber eine hochsignifikante Vermehrung der Promonozyten und Monozyten, welche die der eigenen Versuche übertrifft (251). Sie führt dies auf die Wirkung eines Monopoese-spezifischen Stimulators im CMoL-Serum zurück. Dieser Stimulator wird durch Hitzebehandlung (56°C, 12 min) nicht inaktiviert. Die hitzebehandelten Seren zeigen im Gegenteil sogar einen stärkeren Effekt auf die Monopoese. Desgleichen findet KARL (166) bei CMMoL-Serumzusatz eine Vermehrung monozytärer Zellen im normalen Knochenmark, welche allerdings weniger deutlich ist als die von NIEDERDRÄING beschriebene. Regeneration und Reifung in der Granulopoese sind nicht signifikant beeinflusst.

Betrachtet man bei diesen Untersuchungen nun die Granuloblasten-Mitoseindices der Serumspender in vivo, so liegen diese bei NIEDERDRÄING unterhalb der Norm, bei KARL im Bereich derer normaler Knochenmarkzellen und in den eigenen Versuchen oberhalb der Norm. Demnach scheint auch innerhalb der Gruppe der monozytären Leukämien der Gbl-Mitoseindex in vivo positiv mit dem Mitoseindex normaler Knochenmarkzellen in vitro zu korrelieren. Aber auch eine Korrelation zwischen Mitoseindex in vivo und der Stimulation der Monopoese in vitro scheint zu bestehen, da die Monopoesestimulation in vitro um so deutlicher ausfällt, je niedriger der Granuloblasten-Mitoseindex in vivo ist.

Eine mögliche Erklärung dafür bieten wiederum Ergebnisse aus Versuchen mit der Agarkulturtechnik. Demnach hängt das Verhältnis der Entstehung von granulopoetischen Kolonien zu Makrophagenkolonien von der Höhe der CSF-Konzentration im Medium ab. Bei hohen CSF-Konzentrationen sollen vermehrt granulopoetische, bei niedrigeren CSF-Konzentrationen vermehrt monozytäre Kolonien entstehen (68,212,222,236). Dies wird verständlich, wenn man bedenkt, daß nach PELUS und anderen Autoren Prostaglandine der Reihe E (PGE) die Vorläuferzellen der Monozyten und Makrophagen spezifisch hemmen (266,268,345), und auf der anderen Seite der CSF-Gehalt im umgebenden Milieu nach BROXMEYER die

PGE-Synthese im Makrophagen stimuliert (179,180,266,268). Nach diesem Modell würde eine hohe CSF-Konzentration im Serum, wie sie für die eigenen Patientenserum wahrscheinlich ist, eine Stimulation der PGE-Synthese und damit eine Begünstigung der granulopoetischen Proliferation durch Hemmung der monozytären Vorläuferzellen bewirken. Umgekehrt hätte eine niedrigere CSF-Konzentration, wie sie für das von NIEDERDRÄING verwendete Serum angenommen werden kann, auch eine geringere PGE-Synthese und somit eine ungehemmte Proliferation der monozytären Zellen zur Folge. Mit Hilfe dieses Denkmodells können die Unterschiede in der Proliferation zwischen den eigenen Versuchen und den zitierten Untersuchungen zu monozytären Leukämien erklärt werden.

Nach neueren Erkenntnissen scheint jedoch nicht so sehr die Höhe der CSF-Konzentration, als vielmehr die unterschiedlichen Konzentrationen verschiedener CSF-Untergruppen (s. S. 11) zueinander das Verhältnis von monozytären zu granulozytären Zellen zu bestimmen, so daß als Alternativhypothese eine entsprechende Korrelation des Gbl-Mitoseindex in vivo mit der CSF-Zusammensetzung bedacht werden muß. Interessant in diesem Zusammenhang ist eine von PRICE et al. festgestellte unausgeglichene Produktion bzw. Abgabe von CSF unterschiedlicher Molekulargewichte bei myeloischen Leukämien (271). AML- und CML-Zellen geben danach im Gegensatz zu normalen Zellen nur eines von drei CSF-Molekülen ins umgebende Medium ab, wogegen alle drei in der Zellmembran nachweisbar sind.

Neben der Höhe des CSF-Spiegels müssen jedoch noch weitere Faktoren für die Differenzierungsrichtung von Bedeutung sein, da z.B. bei der AML die CSF-Spiegel stark erniedrigt sind (124,128,135,208,284,286,309), ohne daß eine Stimulation der Monopoese durch derartige Seren oder Zellen zu beobachten wäre (32,124,279).

Andere mögliche Regulatoren der Monopoese sind in Seren verschiedener Tierarten im Verlauf akuter Entzündungsreaktionen nachgewiesen worden. Zu ihnen zählen der sog. "factor inducing monocytopoiesis" (FIM) und der "monocytopoiesis inhibitor" (MPI) (s. S. 12, 14). Ob und in welchem Maße diesen Faktoren auch eine Bedeutung in Fällen monozytärer Leukämien zukommt, muß offen bleiben, da ihr Vorkommen bis heute lediglich im Verlauf von Entzündungsreaktionen in Tierversuchen gesichert ist.

Im Hinblick auf die Vermehrung monozytärer Zellen bei Monozytenleukämien ist auch die kürzlich von KRIEGLER beschriebene "synergistic activity" (SA) herauszustellen, welche nur in Kombination mit CSF das Wachstum von Makrophagen-

vorläuferzellen mit hohem Proliferationspotential stimuliert. SA wurde unter anderem aus Zellen der myelomonozytären Zelllinie WEHI-3 von Mäusen isoliert, findet sich aber auch in Medien, welche mit menschlichen Plazenta- oder Milzzellen inkubiert wurden (175).

Lysozym ist als wichtiges diagnostisches Kriterium in Fällen monozytärer Leukämien im Serum stark erhöht und ebenfalls bei reaktiven Monozytosen vermehrt nachweisbar, so daß auch eine mögliche stimulierende Wirkung des Lysozyms zu diskutieren ist (184,310).

#### 4.2.2.3 Zusammenfassung

Zusammenfassend ist folgendes festzustellen:

1. Im Serum der hier untersuchten monozytären Leukämien müssen stimulierende Faktoren mit Wirkung auf die Granulo- und Monopoese im Knochenmark enthalten sein. Die molekulare Struktur dieser Faktoren muß in dem hier gewählten Versuchsansatz offen bleiben, möglicherweise handelt es sich dabei um den von METCALF beschriebenen CSF. Vergleicht man die Wirkung der beiden hier verwendeten Seren miteinander, so scheint der stimulierende Effekt des AMoL-Serums (Versuche III + IV) größer zu sein als der des AMMoL-Serums (Versuche I + II). Hinweise auf Unterschiede in der stimulierenden Wirkung solcher Seren, aber auch der Seren von CMoL und CMMoL, finden sich in vorhergehenden Arbeiten (19,128,166,251). Denkbar ist allerdings auch eine Verminderung der CSF-Aktivität des hier verwendeten AMMoL-Serums durch die im Vergleich zum AMoL-Serum längere Lagerung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  (s.S. 18). So beschreibt z.B. ENTRINGER einen deutlichen Aktivitätsverlust des CSF im normalen menschlichen Serum während der Lagerung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  über 80 Tage (96). Dies muß als ursächlicher Faktor der Unterschiede in der stimulierenden Wirkung beider Seren mit in Betracht gezogen werden.
2. Seren von akuten nicht-lymphatischen Leukämien scheinen in vitro die Regeneration des normalen Knochenmarks zu stimulieren, wenn in vivo der Gbl-Mitoseindex des Serumpenders hoch ist. Umgekehrt scheint in vitro die Regeneration vermindert zu sein, wenn der in-vivo-Mitoseindex niedrig ist. Weiterhin korreliert nicht nur die Ausreifungstendenz der Leukämiezellen in vitro (40), sondern auch die der normalen Knochenmarkszellen nach sprechendem Serumzusatz mit dem Mitoseindex in vivo. Interessant in diesem Zusammenhang ist, daß die Leukämieformen mit dem höchsten CSF-Gehalt (AMoL, AMMoL) auch die höchsten in-vivo-Mitoseindices aller myeloischen

Leukämieformen haben (300,302). Da Patienten mit akuten Leukämien oft an Infektionen erkranken, bei Infektionen jedoch der CSF-Gehalt des Serums erhöht ist (s. S. 111), kann, obwohl klinisch bei beiden Patienten kein Hinweis dafür bestand, eine Infektion als mögliche Ursache der vermehrten Stimulatorenkonzentration nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.

#### 4.3 Diskussion der Ergebnisse der Versuchsreihe II (Blutzellen bei myeloproliferativen Erkrankungen)

Vergleicht man die Ergebnisse der Versuche V - IX nach MoL-S-Zusatz mit denen nach autologem Serumzusatz, findet sich in der Granulopoese eine deutliche Vermehrung der Granuloblastenmitosen (Abb. 11.4, S. 93; Tab. 16, S. 153). Bei Zusammenfassung aller 5 Versuche ist dieses Ergebnis an allen Stichtagen signifikant bzw. hochsignifikant (Tab. 19, S. 154). Die nahezu unveränderte karyologische Kurve läßt auf einen ungestörten Mitoseablauf auch bei MoL-S-Zusatz schließen (Abb. 11.5, S. 93). Somit dürfte der erhöhte Gbl-Mitoseindex auch bei den Blutkulturen einer verstärkten Regeneration in der Granulopoese entsprechen.

Der prozentuale Anteil der Granuloblasten an der Granulopoese ist im Mittel der Versuche V - VIII trotz der verstärkten Regeneration vermindert, was eine Reifungsförderung der Granulopoese durch den MoL-S-Zusatz vermuten läßt, zumal auch die Granulozyten entsprechend zunehmen (Abb. 11.2, 11.3, S. 91, 92; Tab. 20, S. 153, 154).

Entsprechend der Stimulation von Regeneration und Reifung ist auch die absolute Zahl der granulopoetischen Zellen im Mittel der Versuche V - VIII durch den MoL-S-Zusatz an allen Tagen erhöht (Abb. 11.1, S. 91). Ausnahmen bilden hier lediglich die Versuche VII (CML) und VIII (OMS) (Abb. 8.1, 9.1, S. 81, 84). Verstärkte Zeichen der Zelldegeneration sowohl bei AMMoL-S-Zusatz als auch bei Eigenserumzusatz machen bei diesen Versuchen schlechte Kulturbedingungen als Ursache wahrscheinlich (s. S. 31).

Die Gruppe der monozytären Zellen zeigt in allen 5 Versuchen unterschiedliches Verhalten. Während in den Versuchen V und VII (Abb. 6.1, 6.2, 8.1, 8.2, S. 74, 81) durch den MoL-S-Zusatz nur geringe Veränderungen festzustellen sind, nimmt die Gruppe der (PMo+Mo) in den Versuchen VI, VIII und IX (Abb. 7.1, 7.2, 9.1, 9.2, 10.1, 10.2, S. 78, 84, 87), wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß und zu verschiedenen Zeitpunkten, zu.

Die weitaus stärkste Stimulation der Monopoese wird in Versuch IX (CMoL-Blut)

beobachtet (Abb. 10.1, 10.2, S. 87). Hier zeigt sich eine hochsignifikante Vermehrung der Gruppe der Promonozyten und Monozyten bis zum 7. Tag (Tab. 24, S. 156). Aufgrund ihrer Ausreifung zu Makrophagen findet sich am 10. Tag eine entsprechende hochsignifikante Vermehrung der Makrophagen (Abb. 10.3, 10.4, S. 88; Tab. 25, S. 157).

Faßt man die übrigen Versuche zusammen, ergeben ihre Mittelwerte ebenfalls eine hochsignifikante Vermehrung der Gruppe der Promonozyten und Monozyten am 2. - 3. Tag (Abb. 11.1, 11.2, S. 91; Tab. 21, S. 155). Dieser folgt aber erst am 8. - 10. Tag eine entsprechende Zunahme des Makrophagenanteils (Abb. 11.7, S. 94; Tab. 22, S. 155). Demzufolge ist bei der Zusammenfassung aller monozytären Zellen einschließlich der Makrophagen eine hochsignifikante Vermehrung dieser Zellgruppe erst am 8. - 10. Tag zu beobachten (Abb. 11.8, S. 95; Tab. 18, 23, S. 153, 156).

Durch den Zusatz von MoL-Serum zu den Blutzellen myeloproliferativer Erkrankungen wird deren Regeneration und Reifung in allen 5 Versuchen (V - IX) deutlicher stimuliert als durch das jeweilige Eigenserum. Demnach scheinen die MoL-Seren einen höheren Gehalt an Stimulatoren mit Wirkung auf die leukämische Granulopoese zu haben als die CML-, CMoL- und OMS-Seren, deren stimulierende Wirkung auf die Regeneration normaler Knochenmarkzellen schon stärker ausgeprägt ist als die normaler Seren (32,199,307). Die vermehrte Stimulatorenabgabe durch CML-Zellen wurde bereits beschrieben, wenngleich andere Autoren über eine verminderte Kolonie-stimulierende-Aktivität berichten (s. S. 15).

Bei der Betrachtung von Knochenmark- und Blutzellkulturen läßt sich die Frage nach der Vergleichbarkeit lediglich durch parallele Kulturen beider Zellpopulationen ein und desselben Patienten beantworten. Bislang liegen dazu nur wenige Untersuchungen im hier verwendeten Kulturverfahren vor. Die Ergebnisse sind z. T. kontrovers. Daher ist z. Zt. keine endgültige Aussage darüber möglich, ob diese Zellen unter gleichen Kulturbedingungen in vitro die gleiche Regenerations- und Reifungskapazität zeigen (172). Derartige Vergleiche sind somit nur mit Einschränkungen möglich.

Betrachtet man nun die Proliferation der hier untersuchten granulopoetischen Blutzellen bei myeloproliferativen Erkrankungen (CML, CMoL, OMS) (Versuch V - IX) im Vergleich zur Proliferation normaler Knochenmarkzellen (Versuch I - IV),

ist sie durch den MoL-S-Zusatz vermehrt stimuliert. Dies manifestiert sich, ebenso wie bei dem Vergleich mit dem jeweiligen Eigenserum (s. o.), sowohl in einer verstärkten Regeneration als auch in einer schnelleren Ausreifung granulopoetischer Zellen (Abb. 5.9, 11.4; 5.8, 11.3, S. 69, 93, 68, 92). Möglicherweise trägt die von anderen Autoren beobachtete geringere Empfindlichkeit der CML-Zellen für Inhibitoren in Seren zu diesem Ergebnis bei (49,56, 62,74).

Im Gegensatz zu normalen Knochenmarkszellen kommt es bei den pathologischen Blutzellen im Mittel zu einer ausgeprägten Vermehrung der Granulozyten mit einem Maximum am 4. - 5. Tag (Abb. 5.6, 11.1, S. 67, 91). Diese im Vergleich zu normalem Knochenmark viel stärkere Vermehrung der Granulozyten durch den MoL-S-Zusatz kann nicht allein mit der verstärkten Regeneration und der schnelleren Ausreifung erklärt werden. Vermutlich ist diese Akkumulation durch die im Vergleich zu normalen Granulozyten verlängerte Lebensdauer leukämischer Granulozyten mitbedingt (5,89,308).

Die monozytären Zellen im pathologischen Blut zeigen im Vergleich zu normalen Knochenmarkszellen bei MoL-S-Zusatz, im Gegensatz zu den granulopoetischen Zellen, zunächst einen langsameren Anstieg. Die Promonozyten und Monozyten sind dabei vermehrt, die Makrophagen vermindert (Abb. 11.1, 11.2; 11.6, 11.7, S. 91, 94). Dies läßt eine Ausreifungshemmung der pathologischen Blutmonozyten zu Makrophagen vermuten. Ähnlich findet NIEDERDRÄING bei CML-Knochenmarkszellen ebenfalls eine verspätete Stimulation der Monopoese durch Zusatz von CMoL-Serum in vitro (251).

Am Ende der Inkubation (8. - 10. Tag) kommt es durch den MoL-S-Zusatz trotzdem zu einer hochsignifikanten Zunahme des Anteils aller monozytären Zellen, einschließlich der Makrophagen, an der Gesamtzellzahl. Möglicherweise trägt hierzu die in der Literatur beschriebene verminderte Empfindlichkeit der CML-Zellen für Prostaglandin E (2,267,323) und die daraus folgende geringere Hemmung monozytärer Vorstufen bei (s. a. S. 112, 113).

Betrachtet man die gesamte Gruppe der untersuchten myeloproliferativen Erkrankungen, so zeigen die CMoL-Blutzellen durch den MoL-S-Zusatz die weitaus stärkste Vermehrung aller monozytären Zellen mit Einschluß der Makrophagen (Versuch IX). Zu einem vergleichbaren Ergebnis kommen KATAYAMA et al. bei der Untersuchung von CMMoL-Knochenmarkszellen in Agarkultur (167). Dabei zeigt das CMMoL-Knochenmark bei der Proliferation in vitro einen höheren Anteil monozytärer Zellen als das CML- und das normale Knochenmark. Die Koloniebil-

dung setzt bei CMMoL-Zellen jedoch verspätet ein. Eine mögliche Erklärung bietet die Annahme einer erhöhten Anzahl der monozytär determinierten Vorstufen im peripheren Blut bei CMoL, ähnlich der für CML-Blut bereits seit längerem bekannten Vermehrung granulozytär determinierter Vorstufen (239, 217).

## 5. Zusammenfassung der Arbeit

Zur Untersuchung humoraler Regulatoren in den Seren zweier an AMoL bzw. AMMoL erkrankter Patienten mit in vivo erhöhten Erythroblasten- und Granuloblasten-Mitoseindices wurde die Suspensionskulturmethode nach BOLL angewendet. Normale Knochenmarkzellen wurden in RPMI-Medium mit Zusatz von 40 %-igem gefroren-getauten AMoL- bzw. AMMoL-Serum 10 Tage lang kultiviert. Als Kontrolle diente der Zusatz von gefroren-getautem autologen Serum in gleicher Konzentration.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Proliferation von Blutzellen bei myeloproliferativen Erkrankungen (CML, CMoL und OMS) unter den gleichen Bedingungen untersucht.

In den Versuchen mit Knochenmarkzellen (Versuch I - IV) kam es durch die Leukämieseren zu einer Vermehrung der Erythroblasten bei gleichzeitiger Hemmung der Ausreifung. In der Granulopoese waren sowohl die Regeneration als auch, insbesondere in der zweiten Hälfte der Inkubationszeit, die Ausreifung hochsignifikant stimuliert. Weiterhin kam es zu einer hochsignifikanten Vermehrung der monozytären Zellen, anfangs zugunsten der Promonozyten und Monozyten, später dagegen zugunsten der Makrophagen.

Auch die Proliferation der Blutzellen bei myeloproliferativen Erkrankungen (Versuch V - IX) wurde durch das AMoL- bzw. AMMoL-Serum stimuliert, wenngleich in Ausprägung und zeitlichem Ablauf Unterschiede zum Verhalten der normalen Knochenmarkzellen und auch innerhalb der Gruppe der myeloproliferativen Erkrankungen festzustellen waren.

Diese Ergebnisse lassen auf die Anwesenheit von Stimulatoren mit Wirkung auf die Proliferation sowohl der Erythropoese als auch der normalen wie leukämischen Granulo- und Monopoese schließen. Die eigenen Ergebnisse wurden mit denen anderer Autoren verglichen und die molekulare Natur der hier beobachteten Faktoren wurde diskutiert.

## 6 Literaturverzeichnis

1. ABBOUD, C.N., DIPERSIO, J.F., BRENNAN, J.K. et al.: Erythropoietic enhancing activity (EEA) secreted by the human cell line GCT. J. supramol. structure 13: 199 (1980)
2. AGLIETTA, M., PIACIBELLO, W., GAVOSTO, F.: Insensitivity of chronic myeloid leukemia cells to inhibition of growth by prostaglandin E. Cancer Res. 40: 2507 (1980)
3. AMADORI, S., PETTI, M.C., MASTROVINCENZO, C. et al.: Blast cell kinetics and prognosis in acute nonlymphocytic leukemia. Leuk. Res. 4/2: 239 (1980)
4. ASCENSAO, J.L., KAY, N.E., EARENFIGHT, T., et al.: Production of erythroid potentiating factor(s) by a human monocytic cell line. Blood 57: 170 (1981)
5. ATHENS, J.W., RAAB, S.O., HAAB, O.P. et al.: Leukokinetic studies. X. Blood granulocyte kinetics in chronic myelocytic leukemia. J. Clin. Invest. 44: 765 (1965)
6. AXELRAD, A.A., MCLEOD, D.L., SHREEVE, H.M. et al.: Properties of cells that produce erythrocytic colonies in vitro. In: Hemopoiesis in culture. Robinson W. (ed.), pp. 226, U. S. Government Printing Office, Washington (1974)
7. AYE, M.T.: Erythroid colony formation in cultures of human marrow: Effect of leucocyte conditioned medium. J. Cell. Physiol. 91: 69 (1977)
8. BAGBY, G.C., MCCALL, E., LAYMAN, D.L.: Regulation of colony-stimulating activity production. J. Clin. Invest. 71: 340 (1983)
9. BAKER, F.L., GALBRAITH, P.R.: Mechanism of action of serum factors that regulate granulopoiesis in vitro: Possible physiologic role of serum-inhibiting activity. Blood 53: 304 (1979)
10. BALÁZS, A., MANN, J., TAKÁCSI-NAGY, L. et al.: In vitro proliferation of normal and leukaemic human leucocytes controlled by an inhibitory endopeptide. Fol. haemat. (Lpz.) 110: 24 (1983)
11. BATEMAN, A.E., GOODWIN, B.C.: An inhibitor of DNA synthesis in erythrocyte-conditioned medium and its separation from haemoglobin. Biomedicine 25: 77 (1976)
12. BATEMAN, A.E.: Cell specificity of chalone-type inhibitors of DNA synthesis released by blood leucocytes and erythrocytes. Cell Tissue Kinet. 7: 451 (1974)
13. BEGEMANN, H., HEMMERLE, W.: Die Mitosefähigkeit des menschlichen Knochenmarks und ihre Beeinflussung durch zytostatische Substanzen. Klin. Wschr. 27: 530 (1949)

14. BENESTAD, H.B., RYTÖMAA, T., SVENSSON, T.: Some methods of assaying inhibitors of cell proliferation. *Exp. Hemat.* 8: 961 (1980)
15. BENESTAD, H.B.: Formation of granulocytes and macrophages in diffusion chamber cultures of mouse blood leucocytes. *Scand. J. Haemat.* 7: 279 (1970)
16. BESSLER, H., NOTT, I., DJALDETTI, M.: Quantitative determination of human plasma erythropoietin using mouse liver erythroblasts. *Acta haemat.* 63: 204 (1980)
17. BEUST, ALBRECHT VON: Wirkung von Serum bei einer beginnenden chronischen myeloischen Leukämie auf die Proliferation menschlichen Knochenmarkes in vitro. *Med. Diss. Berlin* (1975)
18. BEUTLER, E., WEST, C., JOHNSON, C.: Involvement of the erythroid series in acute myeloid leukemia. *Blood* 53: 1203 (1979)
19. BIANCHI SCARRA, G.L., BARRESI, R., SESSAREGO, M. et al.: Marrow colony stimulating activity in chronic myelogenous leukemia. *Exp. Hemat.* 9: 917 (1981)
20. BIANCHI SCARRÀ, G.L., AJMAR, F., BARRESI, R. et al.: Urinary colony-stimulating factor in acute leukemia. Follow-up and correlation with various phases of the disease. *Acta haemat.* 65: 253 (1981)
21. Bierman, H.R.: Characteristics of leukopoietin-G in animals and man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 113: 753 (1964)
22. BLACKSTOCK, A.M., GARSON, O.M.: Direct evidence for involvement of erythroid cells in acute myeloblastic leukaemia. *Lancet* II: 1178 (1974)
23. BOCK, H.E.: Das Hämyelogramm. *Klin. Wschr.* 18: 1565 (1939)
24. BÖYUM, A., LÖVHAUG, D., VIKEN, K.E. et al.: Medium conditioned for 24 hours by mononuclear human blood cells contains an inducer of granulopoiesis lacking colony stimulating activity. *Scand. J. Haemat.* 25: 385 (1980)
25. BÖYUM, A., LÖVHAUG, D., BOECKER, W.R.: Regulation of bone marrow cell growth in diffusion chambers: The effect of adding normal and leukemic (CML) polymorphonuclear granulocytes. *Blood* 48: 373 (1976)
26. BOGGS, D.R., MARSH, J.C., CHERVENICK, P.A. et al.: Neutrophil releasing activity in plasma of normal human subjects injected with endotoxin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 127: 689 (1968)
27. BOGNACKI, J., BROXMEYER, H.E., LOBUE J.: Isolation and biochemical characterisation of leukemia-associated inhibitory activity that suppresses colony and cluster formation of cells. *Biochim. Biophys. Acta* 672: 176 (1981)
28. BOLIN, R.W., ROBINSON, W.A.: Control factors of granulopoiesis in human serum. *Am. J. Hemat.* 6: 1 (1979)
29. BOLL, I.: Die morphologische Charakterisierung des myelopoetischen Stammzellspeichers beim Menschen. *Fol. haemat. (Lpz.)* 107: 531 (1980)

30. BOLL, I.: Zytologische Knochenmarkdiagnostik; 2. Aufl., S. 21; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1980)
31. BOLL, I.T.M., DOMEYER, C.: Lymphocytes as helper cells for mitosis of haemopoietic stem cells in human bone marrow. Time lapse phase contrast observations. *Europ. J. Cell Biology* 22: 359 (1980)
32. BOLL, I.T.M. and coworkers: Serum factors influencing human granulocytopoietic proliferation in clot cultures. *Exp. Hemat.* 7: 121 (1979)
33. BOLL, I.T.M., STERRY, K., MAURER, H.R.: Evidence for a rat granulocyte chalone effect on the proliferation of normal human bone marrow and of myeloid leukemias. *Acta haemat.* 61: 130 (1979)
34. BOLL, I.: Studien zur humoralen Regulation des erythropoetischen Proliferationsspeichers beim Menschen. *Klin. Wschr.* 56: 187 (1978)
35. BOLL, I., KOEPPEN K.-M.: In vitro Nachweis von die Granulozytopoese stimulierenden Faktoren im Serum von verschiedenen Erkrankungen. *Blut* 37: 139 (1978)
36. BOLL, I.T.M., MAURER, H.R., KOEPPEN, K.-M.: Effect of a rat granulocyte chalone on the proliferation of human bone marrow cultures in normal state and in chronic myelocytic leukemias. 6<sup>th</sup> Annual Conference of The International Society For Experimental Hematology, Basel (1977)
37. BOLL, I.: Granulozytopoese - Morphologie, Physiologie, Kinetik und Funktion. In: *Handbuch der Inneren Medizin*, Bd. II/3, S. 193 ; H. Begemann (Hrsg.); Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1976)
38. BOLL, I., COLLMANN, H., AUST, C.: Quantitative Bestimmung der Proliferationskinetik des menschlichen Knochenmarks während drei Kulturtagen. *Blut* 31: 201 (1975)
39. BOLL, I.: Morphologische phasenkontrast-kinematographische Studien zum Verhalten von Knochenmark und Blutzellen in vitro. VIII: Das Monozyten-System beim Menschen. *Blut* 28: 8 (1974)
40. BOLL, I., WEISSENFELS, I., KOSS, G. et al.: Die Proliferationskinetik der akuten Erwachsenen-Leukämien untersucht an der Knochenmark-, Blut- und Phytohaemagglutinin-Kultur . In: *Leukämie*; R. Gross, J. van de Loo (Hrsg.); S. 193; Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1972)
41. BOLL, I., MERSCH, G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulozytopoese in vitro. *Blut* 19: 257 (1969)
42. BOLL, I., MERSCH, G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro. *Blut* 17: 193 (1968)

43. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1966)
44. BOLL, I.: Die Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulopoese. Fortschr. Med. 4: 127 (1966)
45. BRADLEY, T.R., METCALF, D.: The growth of mouse bone marrow cells in vitro. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 44: 287 (1966)
46. BRENNAN, J.K., ABOUD, C.N., DIPERSIO, J.F. et al.: Autostimulation of growth by human myelogenous leukemia cells (HL-60). Blood 58: 803 (1981)
47. BRENNAN, J.K., DIPERSIO, J.F., ABOUD, C.N. et al.: The exceptional responsiveness of certain human myeloid leukemia cells to colony-stimulating activity. Blood 54: 1230 (1979)
48. BROCKBANK, K.G.M.: Proliferative effect of burst-promoting activity upon early erythroid progenitors. Biomedicine 34: 184 (1981)
49. BROXMEYER, H.E., GENTILE, P., BOGNACKI, J. et al.: Lactoferrin, transferrin, and acidic isoferritins: Regulatory molecules with potential therapeutic value in leukemia. Blood Cells 9: 83 (1983)
50. BROXMEYER, H.E., BOGNACKI, J., RALPH, P. et al.: Monocyte-macrophage-derived acidic isoferritins: Normal feedback regulators of granulocyte-macrophage progenitor cells in vitro. Blood 60: 595 (1982)
51. BROXMEYER, H.E.: Relationship of cell-cycle expression of Ia-like antigenic determinants on normal and leukemia human granulocyte-macrophage progenitor cells to regulation in vitro by acidic isoferritins. J. Clin. Invest. 69: 632 (1982)
52. BROXMEYER, H.E., BOGNACKI, J., DORNER, M.H. et al.: Identification of leukemia-associated inhibitory activity as acidic isoferritins. J. Exp. Med. 153: 1426 (1981)
53. BROXMEYER, H.E., DESOUSA, M., SMITHYMAN, A. et al.: Specificity and modulation of the action of lactoferrin, a negative feedback regulator of myelopoiesis. Blood 55: 324 (1980)
54. BROXMEYER, H.E., RALPH, P., MARGOLIS, V.B. et al.: Characteristics of bone marrow and blood cells in human leukemia that produce leukemia inhibitory activity (LIA). Leuk. Res. 3: 193 (1979)
55. BROXMEYER, H.E., GROSSBARD, E., JACOBSEN, N.: Persistence of leukemia inhibitory activity during remission of acute leukemia. N. Engl. J. Med. 301: 346 (1979)
56. BROXMEYER, H.E., MOORE, M.A.S.: Communication between white cells and the abnormalities of this in leukemia. Biochim. Biophys. Acta 516: 129 (1978)

57. BROXMEYER, H.E., JACOBSEN, N., KURLAND, J. et al.: In vitro suppression of normal granulocytic stem cells by inhibitory activity derived from human leukemia cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 60: 497 (1978)
58. BROXMEYER, H.E., GROSSBARD, E., JACOBSEN, N. et al.: Evidence for a proliferative advantage of human leukemia colony forming cells (CFU-C) in vitro. *J. Natl. Cancer Inst.* 60: 513 (1978)
59. BROXMEYER, H.E., SMITHYMAN, A., EGER, R.R. et al.: Identification of lactoferrin as the granulocyte-derived inhibitor of colony-stimulating activity production. *J. Exp. Med.* 148: 1052 (1978)
60. BROXMEYER, H.E.: Inhibition in vivo of mouse granulopoiesis by cell free activity derived from human polymorphonuclear neutrophils. *Blood* 51: 889 (1978)
61. BROXMEYER, H.E., MOORE, M.A.S., RALPH, P.: Cell-free granulocyte colony inhibiting activity derived from human polymorphonuclear neutrophils. *Exp. Hemat.* 5: 87 (1977)
62. BROXMEYER, H.E., MENDELSON, N., MOORE, M.A.S.: Abnormal granulocyte feedback regulation of colony forming and colony stimulating activity-producing cells from patients with chronic myelogenous leukemia. *Leuk. Res.* 1: 3 (1977)
63. BULLOUGH, W.S., RYTÖMÄ, T.: Mitotic homeostasis. *Nature* 205: 573 (1965)
64. BURGESS, A.W., METCALF, D., RUSSEL, S.H.M. et al.: Granulocyte/Macrophage-, megakaryocyte-, eosinophil- and erythroid-colony-stimulating factors produced by mouse spleen cells. *Biochem. J.* 185: 301 (1980)
65. BURGESS, A.W., METCALF, D.: Characterisation of a serum factor stimulating the differentiation of myelomonocytic leukemic cells. *Int. J. Cancer* 26: 647 (1980)
66. BURGESS, A.W., METCALF, D.: The nature and action of granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Blood* 56: 947 (1980)
67. BURGESS, A.W., CAMAKARIS, J., METCALF, D.: The purification and properties of colony stimulating factor from mouse lung conditioned medium. *J. Biol. Chem.* 252: 1998 (1977)
68. BURGESS, A.W., METCALF, D.: Colony-stimulating factor and the differentiation of granulocytes and macrophages. *Exp. Hemat. Today*, pp. 135; Springer Verlag New York Berlin (1977)
69. CHAN, S.H., METCALF, D., STANLEY, E.R.: Stimulation and inhibition by normal human serum of colony formation in vitro by bone marrow cells. *Br. J. Haemat.* 20: 329 (1971)
70. CHERVENICK, P.A., LOBUGLIO, A.F.: Human blood monocytes: Stimulators of granulocyte and mononuclear colony formation in vitro. *Science* 178: 164 (1972)

71. CHIYODA, S., MIZOGUCHI, H., ASANO, S. et al.: Influence of leukaemic cells on the colony formation of human bone marrow cells in vitro. II. Suppressive effects of leukaemic cell extracts. *Br. J. Cancer* 33: 379 (1976)
72. CHIYODA, S., MIZOGUCHI, H., KOSAKA, K. et al.: Influence of leukaemic cells on the colony formation of human bone marrow cells in vitro. *Br. J. Cancer* 31: 355 (1975)
73. CLARKE, B.J., HOUSMAN, D.: Characterisation of an erythroid precursor cell of high proliferative capacity in normal human peripheral blood. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 1105 (1977)
74. CLINE, M.J., OLOFSSON, T., FRÖHLICH, M. et al.: Inhibitors of hematopoiesis obtained from mature neutrophils, established cell lines, and patients with bone-marrow-failure syndroms. In: *Differentiation of normal and neoplastic hemopoietic cells*. Book A, pp. 359, Cold Spring Harbor Lab. (1978)
75. CLINE, M.J., ROTHMAN, B., GOLDE, D.W.: Effect of endotoxin on the production of colony-stimulating factor by human monocytes and macrophages. *J. Cell. Physiol.* 84: 193 (1974)
76. CLINE, M.J., GOLDE, D.W.: Production of colony-stimulating activity by human lymphocytes. *Nature* 248: 703 (1974)
77. COLLINS, R.B., CLARK, A.C.L., PATTERSON, B.: Erythropoiesis in the newborn. II. Urinary inhibitor of erythropoiesis. *Aust. Paediatr. J.* 9: 128 (1973)
78. CORK, M., ANDERSON, J., THOMAS, D.B. et al.: Regulation of the growth fraction of CFU-S by an inhibitor produced by bone marrow. *Leuk. Res.* 5: 101 (1981)
79. CRADDOCK, C.G., RODENSKY, O., FORSEN, N.R. et al.: Myeloblastic leukemic cells causing suppression of granulopoiesis and excessive binding of colony stimulating activity. *Am. J. Med.* 64: 343 (1978)
80. DAS, S.K., STANLEY, E.R., GUILBERT, L.J. et al.: Human colony-stimulating factor (CSF-1) radioimmunoassay: Resolution of three subclasses of human colony stimulating factors. *Blood* 58: 630 (1981)
81. DEXTER, T.M.: Stromal cell associated haemopoiesis. *J. Cell. Physiol.* (Suppl.) 1: 87 (1982)
82. DEXTER, T.M., TESTA, N.G., ALLEN, T.D. et al.: Molecular and cell biologic aspects of erythropoiesis in long-term bone marrow cultures. *Blood* 58: 699 (1981)
83. DEXTER, T.M., ALLEN, T.D., LAJTHA, L.G.: Conditions controlling the proliferation of haemopoietic stem cells in vitro. *J. Cell. Physiol.* 91: 335 (1977)
84. DIPERSIO, J.F., BRENNAN, J.K., LICHTMAN, M.A. et al.: The fractionation, characterisation, and subcellular localization of colony-stimulating activities

- released by the human monocyte-like cell line, GCT. Blood 56: 717 (1980)
85. DIPERSIO, J.F., BRENNAN, J.K., LICHTMAN, M.A. et al.: Human cell lines that elaborate colony stimulating activity for the marrow cells of man and other species. Blood 51: 507 (1978)
86. DÖRMER, P., LAU, B., WILMANN, W.: Kinetics of bone marrow cell production in human acute and chronic myeloid leukemias. Leuk. Res. 4: 231 (1980)
87. DOUAY, L., BARBU, V., BAILLOU, C. et al.: The role of serum lipoproteins on the in vitro proliferative potential of human hematopoietic progenitors CFU<sub>C</sub> and CFU<sub>E</sub>. Exp. Hemat. 11: 499 (1983)
88. DOUADY, F., LAURENT, M., BERTHIER, R. et al.: Etude de la production de CSF par les leucocytes de sujets normaux et de sujets atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC). In: Cultures de cellules hématopoïétiques in vitro. Vol.42, p. 139, INSERM (1975)
89. DRINGS, P.: Die chronische myeloische Leukämie. In: Das Knochenmark, W. Queisser (Hrsg.), S. 297, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1978)
90. DUKES, P.P., MEYTES, D., MA, A. et al.: A urinary factor which stimulates erythroid burst formation more effectively than erythropoietin. In: Hematopoietic Cell Differentiation; D.N. Golde, M.J. Cline, D. Metcalf, C.F. Fox, (eds); pp. 119; Academic Press New York London San Francisco, New York (1978)
91. DUKES, P.P., SHORE, N.A., HAMMOND, G.D. et al.: Prostaglandins and erythropoietin action. In: Erythropoiesis; K. Nakao, J.W. Fisher, F. Takaku, (eds); pp. 3; University of Tokyo Press, Tokyo (1975)
92. ELIASON, J.F., DEXTER, T.M., TESTA, N.G.: The regulation of hemopoiesis in long-term bone marrow cultures. III. The role of burst forming activity. Exp. Hemat. 10: 444 (1982)
93. ELIASON, J.F., TESTA, N.G., DEXTER, T.M.: Erythropoietin-stimulated erythropoiesis in long-term bone marrow culture. Nature 281: 382 (1979)
94. EMBERGER, P.: Die Proliferation menschlicher Knochenmarkszellen bei Chronisch-Myeloischer Leukämie unter Einwirkung von Plasma und Serum nicht leukämischer Probanden im Vergleich mit der Kultivierung im autologen Medium. Med. Diss. Berlin (1977)
95. ENGELBRECHT, H.M., REMMELE, W.: Der Einfluß von Erythropoetin und somatotropem Hormon auf die Retikulozyten-Reifungszeit in vitro. Blut 19: 385 (1969)
96. ENTRINGER, M.A., ROBINSON, W.A., DREBING, C.J.: Colony stimulating activity in normal human serum tested against human bone marrow. Exp. Hemat. 8: 1232 (1980)
97. FAKHRI, O., NOURI, L.: Effects of macrophage transfusions on white cell production in aplastic anaemia. Br. J. Haemat. 39: 623 (1978)

98. FALK, A., SACHS, L.: Clonal regulation of the induction of macrophage- and granulocyte-inducing proteins for normal and leukemic myeloid cells. *Int. J. Cancer* 26: 595 (1980)
99. FIBACH, E., SACHS, L.: Control of normal differentiation of myeloid leukemic cells. IV. Induction of differentiation by serum from endotoxin treated mice. *J. Cell. Physiol.* 83: 177 (1974)
100. FIBACH, E., LANDAU, T., SACHS, L.: Normal differentiation of myeloid leukaemic cells induced by a differentiation-inducing protein. *Nature* 237: 276 (1972)
101. FISCHER, H.: Die Wirkung vom Serum eines Patienten mit Myeloblastenschub einer chronisch myeloischen Leukämie auf normales Knochenmark in vitro. *Med. Diss. Berlin* (1982)
102. FLIEDNER, T.M., HOELZER, D., STEINBACH, K.H.: Physiologische und pathologische Regulation der Erythropoese. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 84: 15 (1978)
103. FORRER, P.: Kinetik und Regulation der Granulopoese. *Klin. Wschr.* 55: 247 (1977)
104. FOSTER, R., METCALF, D., ROBINSON, W.A. et al.: Bone marrow colony stimulating activity in human sera. *Br. J. Haemat.* 15: 147 (1968)
105. FRANCIS, G.E., BOL, S., BERNEY, J.J.: Proliferative capacity, sensitivity to colony stimulating activity and buoyant density: Linked properties of granulocyte-macrophage progenitors from normal human bone marrow. *Leuk. Res.* 5: 243 (1981)
106. FRANCIS, G.E., TUMA, G.A., BERNEY, J.J. et al.: Sensitivity of acute myeloid leukaemia cells to colony stimulating activity: Relation to response to chemotherapy. *Br. J. Haemat.* 49: 259 (1981)
107. FRANCIS, G.E., BERNEY, J.J., MURRAY, V.S.G.: Adherent cell dependent colony-stimulating activity in human serum: A granulopoietic regulator? *Scand. J. Haemat.* 24: 13 (1980)
108. FRANCIS, G.E., BERNEY, J.J., CHIPPING, P.M. et al.: Stimulation of human haemopoietic cells by colony stimulating factors: Sensitivity of leukaemic cells. *Br. J. Haemat.* 41: 545 (1979)
109. FRANCIS, G.E., BERNEY, J.J., HOFFBRAND, A.V.: Stimulation of human haemopoietic cells by colony stimulating factors: Adherent cell dependent colony stimulating activity in human serum. *Br. J. Haemat.* 35: 625 (1977)
110. FRANKLIN, K.W., MOLONEY, W.C., GREENBERGER, J.S.: Suppression of granulopoiesis in diffusion chambers by syngeneic clonal acute myelogenous leukemic cells or peritoneal exsudate macrophages. *Acta haemat.* 61: 317 (1979)

111. FREEDMAN, M.H., GRUNBERGER, T., SAUNDERS, E.F.: Erythropoietic inhibitors in uremic serum. *Clin. Invest. Med.* 5: 237 (1982)
112. GALLAGHER, R.E., GALLO, R.C.: C-type RNA tumor virus isolated from cultured human acute myelogenous leukemia cells. *Science* 187: 350 (1975)
113. GARCIA, J.F., SHERWOOD, J., GOLDWASSER, E.: Radioimmunoassay for erythropoietin. *Blood Cells* 5: 405 (1979)
114. GARTNER, S., KAPLAN, H.S.: Long-term culture of human bone marrow cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4756 (1980)
115. GAVOSTO, F., GABUTTI, V., MASERA, P. et al.: The problem of anaemia in the acute leukaemias. Kinetic study. *Europ. J. Cancer* 6: 33 (1970)
116. GAVOSTO, F., PILERI, A., GABUTTI, V. et al.: Nonself-maintaining kinetics of proliferating blasts in human acute leukaemia. *Nature* 216: 188 (1967)
117. GERASSI, E., SACHS, L.: Regulation of human T cell colonies by an inducing activity (TCI) produced by normal human and malignant mouse cells. *J. Immunol.* 121: 2547 (1978)
118. GERHARDT, D.: Wirkung von leukocytotischem menschlichen Plasma auf die Proliferation menschlichen Knochenmarkes. *Med. Diss. Berlin* (1968)
119. GOLDE, D.W., BERSCH, N., QUAN, S.G. et al.: Production of erythroid-potentiating activity by a human T-lymphoblast cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 593 (1980)
120. GOLDE, D.W., CLINE, M.J.: Growth of human bone marrow in liquid cultures. *Blood* 47: 369 (1976)
121. GOLDE, D.W., CLINE, M.J.: Endotoxin-induced release of colony-stimulating activity in man. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 149: 845 (1975)
122. GOLDE, D.W.: Regulation of granulopoiesis. *N. Engl. J. Med.* 291: 1388 (1974)
123. GOLDE, D.W., SCHOOLEY, J.C., CLINE, M.J.: Erythropoietin-stimulated proliferation of human red cell precursors in vitro. *Br. J. Haemat.* 28: 119 (1974)
124. GOLDE, D.W., ROTHMAN, B., CLINE, M.J.: Production of colony-stimulating factor by malignant leucocytes. *Blood* 43: 749 (1974)
125. GOLDE, D.W., CLINE, M.J.: Regulation of human bone marrow leucopoiesis. *Br. J. Haemat.* 26: 235 (1974)
126. GOLDE, D.W., CLINE, M.J.: Identification of the colony-stimulating cell in human peripheral blood. *J. Clin. Invest.* 51: 2981 (1972)
127. GOLDE, D.W., FINDLEY, T.N., CLINE, M.J.: Production of colony-stimulating factor by human macrophages. *Lancet* II: 1397 (1972)
128. GOLDMAN, J.M., TH'NG, K.H., CATOVSKY, D. et al.: Production of colony-stimulating factor by leukemic leucocytes. *Blood* 47: 381 (1976)

129. GORDON, M.Y., GORDON-SMITH, E.C.: Regulation of granulocyte and macrophage colony-stimulating factor production by phytohaemagglutinin-treated blood mononuclear cells. *Leuk. Res.* 6: 71 (1982)
130. GORDON, M.Y., GORDON-SMITH, E.C.: Lymphocytes and haemopoiesis. *Br. J. Haemat.* 47: 163 (1981)
131. GORDON, A. S., NERI, R.O., SIEGEL, C.D. et al.: Evidence for a circulating leucocytosis-inducing factor (LIF). *Acta haemat.* 23: 323 (1960)
132. GRABER, S.E., KRANTZ, S.B.: Erythropoietin and the control of red cell production. *Ann. Rev. Med.* 29: 51 (1978)
133. GRANSTRÖM, M., WAHREN, B., GAHRTON, G. et al.: Inhibitors of the bone-marrow colony formation in sera of patients with leukemia. *Int. J. Cancer* 10: 482 (1972)
134. GREENBERG, P., MARA, B.: Intramedullary influences on in vitro granulopoiesis in human acute myeloid leukemia. *Haematol. Bluttransfus.* 23: 199, Modern trends in human leukemia III; N. Neth, R.C. Gallo, P.-H. Hofschneider et al. (eds); Springer Verlag Berlin Heidelberg New York (1979)
135. GREENBERG, P.L., NICHOLS, W.C., SCHRIER, S.L.: Granulopoiesis in acute myeloid leukemia and preleukemia. *N. Engl. J. Med.* 284: 1225 (1971)
136. GREGORY, C.J., EAVES, A.C.: Human marrow cells capable of erythropoietic differentiation in vitro: Definition of three erythroid colony responses. *Blood* 49: 855 (1977)
137. GREGORY, C.J.: Erythropoietin sensitivity as a differentiation marker in the hemopoietic system: Studies of three erythropoietic colony responses in culture. *J. Cell. Physiol.* 89: 289 (1976)
138. GRILLI, G., CARBONELL, F.: Effect of blood derived monocytes on the promotion of in vitro erythropoietic colony growth in human bone marrow cultures. *Scand. J. Haemat.* 29: 345 (1982)
139. GRILLI, G., WIELAND, G., CARBONELL, F.: Production of erythropoietic bursts in culture of human bone marrow by blood-derived mononuclear cells. *Blut* 45: 317 (1982)
140. HANDLER, E.S., HANDLER, E.E.: In vitro erythroid colony formation in acute myelogenous leukemia in the rat. *J. Natl. Cancer Inst.* 56: 851 (1976)
141. HARTMANN, D., ENTRINGER, M., ROBINSON, W.A. et al.: Bakterielle Infektion und Regulation der Granulopoiese in vivo. *Schweiz. Med. Wschr.* 111: 1531 (1981)
142. HAVEMANN, K., GASSEL, W.-D., LAUKEL, H.: Humoral factors modulating growth of granulocyte macrophage progenitor cells. *Acta haemat.* 62: 306 (1979)

143. HERMAN, S.P., GOLDE, D.W., CLINE, M.J.: Neutrophil products that inhibit cell proliferation: Relation to granulocytic "chalone". *Blood* 51: 207 (1978)
144. HINTERBERGER, W., MITTERMAYER, K., PAUKOVITS, W. et al.: Different types of endotoxin-induced release of colony stimulating factors by adherent leucocytes in the presence of fresh and heat-inactivated autologous serum. *Scand. J. Haemat.* 25: 221 (1980)
145. HINTERBERGER, W., GRAININGER, W., PAUKOVITS, W.R.: Untersuchungen über die Granulopoese-aktivierenden Funktionen von normalen und leukämisch transformierten Zellen der Monozyten-Makrophagenlinie. *Blut* 41: 277 (1980)
146. HINTERBERGER, W., PAUKOVITS, W.: Untersuchungen über zelluläre und humorale Steuermechanismen der Myelopoese bei Normalpersonen und Patienten mit myeloischen Leukämien. *Wien. Klin. Wschr.* 18: 650 (1980)
147. HINTERBERGER, W., PAUKOVITS, W.R., MITTERMAYER, K.: Endotoxin-induced colony stimulating activity in normal and myeloid leukaemic subjects. *Scand. J. Haemat.* 22: 280 (1979)
148. HINTERBERGER, W., FRISCHAUF, H., KLETTER, K. et al.: Humoral function of acute leukaemic blasts. *Scand. J. Haemat.* 19: 121 (1977)
149. HINTERBERGER, W., MITTERMAYER, K., KINAST, H. et al.: Action of humoral factors derived from acute and chronic myeloid leukemic cells on in vitro myelopoiesis. *Oncology* 34: 193 (1977)
150. HOELZER, D.: Pathogenese der akuten Leukämien. In: *Das Knochenmark*, W. Queisser (Hrsg.), S. 263, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1978)
151. HOFER, E.: *Angewandte Statistik*, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1974) S. 471
152. HORIUCHI, M., ICHIKAWA, Y.: Control of macrophage and granulocyte colony formation by two different factors. *Exp. Cell Res.* 110: 79 (1977)
153. HUBER, C., HUBER, H., SCHMALZL, F. et al.: Decreased proliferative activity of erythroblasts in granulocytic stem cell leukaemia. *Nature* 229: 113 (1971)
154. HUMES, J.L., BONNEY, R.J., PELUS, L. et al.: Macrophages synthesize and release prostaglandins in response to inflammatory stimuli. *Nature* 269: 149 (1977)
155. IMMICH, H.: *Medizinische Statistik*, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart New York (1974)
156. ISCOVE, N.N., ROITSCH, C.A., WILLIAMS, N. et al.: Molecules stimulating early red cell, granulocyte, macrophage, and megakaryocyte precursors in culture: Similarity in size, hydrophobicity, and charge.

- J. Cell. Physiol. (Suppl.) 1: 65 (1982)
157. ISCOVE, N.N.: Regulation of proliferation and maturation at early and late stages of erythroid differentiation. In: Cell differentiation and neoplasia, G.F. Saunders (ed.), pp. 195, Raven Press, New York (1978)
158. ISCOVE, N.N.: Erythropoietin-independent stimulation of early erythropoiesis in adult marrow cultures by conditioned media from lectin-stimulated mouse spleen cells. In: Hematopoietic cell differentiation ; D.W. Golde, M.J. Cline, D. Metcalf, C.F. Fox, (eds); pp. 37; Academic Press, New York (1978)
159. ISCOVE, N.N., GUILBERT, L.J.: Erythropoietin-independence of early erythropoiesis and a two-regulator model of proliferative control in the hemopoietic system. In: In vitro aspects of erythropoiesis ; M.J. Murphy (ed.); pp. 3; Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1978)
160. ISCOVE, N.N., SIEBER, F.: Erythroid progenitors in mouse bone marrow detected by macroscopic colony formation in culture. Exp. Hemat. 3: 32 (1975)
161. ISCOVE, N.N., SIEBER, F., WINTERHALTER, K.H.: Erythroid colony formation in culture of mouse and human bone marrow: Analysis of the requirement for erythropoietin by gel filtration and affinity chromatography on agarose-concavalin. Am. J. Cell Physiol. 83: 309 (1974)
162. ISHIKAWA, A., YAMADA, K., TOMITA, Y.: Studies on erythropoietin in aplastic anemia and leukemia in childhood. In: Erythropoiesis; K. Nakao, J.W. Fisher, F. Takaku, (eds); pp. 447; University of Tokyo Press, Tokyo (1975)
163. JENSEN, M.K., KILLMANN, S.-A.: Additional evidence for chromosome abnormalities in the erythroid precursors in acute leukaemia. Acta med. scand. 189: 97 (1971)
164. JENSEN, M.K., KILLMANN, S.-A.: Chromosome studies in acute leukaemia. Evidence for chromosomal abnormalities common to erythroblasts and leukaemic white cells. Acta med. scand. 181: 47 (1967)
165. KAMPSCHMIDT, R.F., LONG, R.D., UPCHURCH, H.F.: Neutrophil releasing activity in rats injected with endogenous pyrogen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 139: 1224 (1972)
166. KARL, H.-J.: Die Wirkung von Serum bei chronischer myelo-monocytärer Leukämie auf menschliches Knochenmark in vitro dargestellt am Pappenheim-Präparat und mit der unspezifischen Esterase-Reaktion. Med. Dent. Diss. Berlin (1978)
167. KATAYAMA, T., MIURA, Y., SUDA, T. et al.: Characteristics of granulocyte-macrophage colony formation in patients with chronic myelomonocytic leukemia. Stem Cells 1: 345 (1981)

168. KILLMANN, S.-A.: Acute Leukemia: The kinetics of leukemic blast cells in man. *Ser. Haemat. I*, 3: 38 (1968)
169. KIVILAAKSO, E., RYTÖMAA, T.: Erythrocyte chalone, a tissue specific inhibitor of cell proliferation in the erythron. *Cell Tissue Kinet.* 84: 1 (1971)
170. KIVILAAKSO, E., RYTÖMAA, T.: The effect of polycythaemic serum on the proliferation of rat bone marrow cells in vitro. *Cell Tissue Kinet.* 3: 385 (1970)
171. KNUDTZON, S., MORTENSEN, B.T.: Interaction between normal and leukaemic human cells in agar culture. *Scand. J. Haemat.* 17: 369 (1976)
172. KOEPPEN, K.-M.: Funktionelle Charakterisierung leukämischer Blutzellen von Patienten mit akuten nicht-lymphatischen Leukämien, mit chronisch-myeloidischen Leukämien und mit Osteomyelosklerosen durch in-vitro-Suspensionskulturen und ihre klinische Relevanz. *Med. Habil. Schr. Berlin* (1982)
173. KRANTZ, S.B., GOLDWASSER, E.: On the mechanism of erythropoietin-induced differentiation. IV. Some characteristics of erythropoietin action on hemoglobin synthesis in marrow cell culture. *Biochim. Biophys. Acta* 108: 455 (1965)
174. KRANTZ, S.B., GALLIEN-LARTIGUE, O., GOLDWASSER, E.: The effect of erythropoietin upon heme synthesis by marrow cells in vitro. *RNA of Biol. Chem.* 238: 4085 (1963)
175. KRIEGLER, A.B., BRADLEY, T.R., JANUSZEWICZ, E. et al.: Partial purification and characterisation of a growth factor for macrophage progenitor cells with high proliferative potential in mouse bone marrow. *Blood* 60: 503 (1982)
176. KRYSTAL, G.: Physical and biological characterisation of erythroblast enhancing factor (EEF), a late acting erythropoietic stimulator in serum distinct from erythropoietin. *Exp. Hemat.* 11: 18 (1983)
177. KRYSTAL, G., EAVES, A.C., EAVES, C.J.: Determination of normal human serum erythropoietin levels, using mouse bone marrow. *J. Lab. Clin. Med.* 97: 158 (1981)
178. KUNTZ, H.D.: Monozyten-Leukämie. *Münch. med. Wschr.* 119, 44: 1423 (1977)
179. KURLAND, J.I., BROXMEYER, H.E., PELUS, L.M. et al.: Role for monocyte-macrophage-derived colony stimulating factor and prostaglandin E in the positive and negative feedback control of myeloid stem cell proliferation. *Blood* 52: 388 (1978)
180. KURLAND, J.I.: The mononuclear phagocyte and its regulatory interactions in hemopoiesis. *Exp. Hemat. Today*, pp. 47; Springer Verlag New York Berlin (1978)

181. KURLAND, J.I., BOCKMAN, R., BROXMEYER, H.E. et al.: Limitation of excessive myelopoiesis by the intrinsic modulation of macrophage-derived prostaglandin E. *Science* 199: 552 (1978)
182. KURLAND, J.I., MOORE, M.A.S.: Modulation of hemopoiesis by prostaglandins. *Exp. Hemat.* 5: 357 (1977)
183. KURTZ, A., JELKMANN, W., BAUER, C.: A new candidate for the regulation of erythropoiesis. Insulin-like growth factor I. *FEBS Letters* 149: 105 (1982)
184. LABEDZKI, L., SECHE, G., LORBACHER, P.: Untersuchungen der Lysozymaktivität in Serum, Urin und Blutaussstrichen von Patienten mit hämatologischen Erkrankungen. *Klin. Wschr.* 55: 677 (1977)
185. LANDAU, T., SACHS, L.: Characterisation of the inducer required for the development of macrophage and granulocyte colonies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 68: 2540 (1971)
186. LIEBERMANN, D., HOFFMAN-LIEBERMANN, B., SACHS, L.: Regulation and rôle of different macrophage- and granulocyte-inducing proteins in normal and leukemic myeloid cells. *Int. J. Cancer* 29: 159 (1982)
187. LIEBERMANN, D., HOFFMAN-LIEBERMANN, B., SACHS, L.: Regulation of gene expression by tumor promoters. II. Control of cell shape and developmental programs for macrophages and granulocytes in human myeloid leukemic cells. *Int. J. Cancer* 28: 285 (1981)
188. LINDEMANN, R.: Erythropoiesis-inhibiting factor(s) (EIF): Methodologic studies. *Blood* 47: 155 (1976)
189. LINDEMANN, R.: Erythropoiesis inhibiting factor (EIF). I. Fractionation and demonstration of urinary EIF. *Br. J. Haemat.* 21: 623 (1971)
190. LOEFFLER, H.: Die akuten (unreifezelligen) Leukämien. In: *Das Knochenmark*, W. Queisser (Hrsg.) S. 273; Georg Thieme Verlag Stuttgart (1978)
191. LÖVHAUG, D., BÖYUM, A., KRISTIANSEN, T.: Culture of hemopoietic cells in diffusion chambers. In: *Hematopoietic cell differentiation*; D.W. Golde, M. J. Cline, D. Metcalf, C.F. Fox, (eds); pp. 175; Academic Press, New York (1978)
192. LORD, B.I., WRIGHT, E.G.: Interaction of inhibitor and stimulator in the regulation of CFU-S proliferation. *Leuk. Res.* 6: 541 (1982)
193. LORD, B.I., WRIGHT, E.G.: Sources of haemopoietic stem cell proliferation: Stimulators and inhibitors. *Blood Cells* 6: 581 (1980)
194. LORD, B.I., SAH, G.P., LAJTHA, L.G.: The effects of red blood cell extracts on the proliferation of erythrocyte precursor cells in vivo. *Cell Tissue Kinet.* 10: 215 (1977)
195. LORD, B.I., CERCEK, L., CERCEK, B. et al.: Inhibitors of haemopoietic cell

- proliferation?: Specificity of action within the haemopoietic system.  
Br. J. Cancer 29: 168 (1974)
196. LOTEM, J., SACHS, L.: Mechanisms that uncouple growth and differentiation in myeloid leukemia cells; Restoration of requirement for normal growth-inducing protein without restoring induction of differentiation-inducing protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 4347 (1982)
197. LOTEM, J., LIPTON, J.H., SACHS, L.: Separation of different molecular forms of macrophage- and granulocyte-inducing proteins for normal and leukemic myeloid cells. Int. J. Cancer 25: 763 (1980)
198. LOTEM, J., SACHS, L.: In vivo induction of normal differentiation in myeloid leukemia cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 3781 (1978)
199. LÜBBE, R.: Wirkung von Seren von Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie auf die Proliferation menschlichen Knochenmarks in vitro. Med. Diss. Berlin (1975)
200. LUSIS, A.J., QUON, D.H., GOLDE, D.W.: Purification and characterisation of a human T-lymphocyte-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Blood 57: 13 (1981)
201. MANGALIK, A., ROBINSON, W.A.: The effect of serum from patients with acute granulocytic leukemia on granulocyte colony formation in vitro: A search for inhibitors. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 141: 515 (1972)
202. MARTI, H.R.: Erythropoese bei unreifzelligen Leukosen. Fol. haemat. (Lpz.) 108: 169 (1981)
203. MCCULLOCH, E.A.: Stem cells in normal and leukemic hemopoiesis. (Henry Stratton Lecture, 1982). Blood 62: 1 (1983)
204. MCCULLOCH, E.A., TILL, J.E.: Cellular interactions in the control of hemopoiesis. In: Hemopoietic cellular proliferation; F. Strohman (ed.); pp. 15; Grune and Stratton New York (1970)
205. MCLEOD, D.L., SHREEVE, M.M., AXELRAD, A.A.: Improved plasma culture system for production of erythrocytic colonies in vitro; Quantitative assay method for CFU-E. Blood 44: 517 (1974)
206. MELCHNER, H. VON, HÖFFKEN, K., SCHMIDT, C.G.: Zur Ätiologie und Pathogenese der Leukämien. Dtsch. med. Wschr. 108: 1686 (1983)
207. MENDE, S., FÜLLE, H.-H., KNUTH, A. et al.: Myelomonozytäre Leukämie: Klinische, zytologische und zytogenetische Studien bei akuten, subakuten und chronischen Verlaufsformen. Blut 35: 21 (1977)
208. MESSNER, H.A., TILL, J.E., MCCULLOCH, E.A.: Interacting cell populations affecting granulopoietic colony formation by normal and leukemic human marrow cells. Blood 42: 701 (1973)

209. METCALF, D.: Early events in the suppression of myeloid leukemic cells by biological regulators. *Hämatol. Bluttransfus.* 28: 320; *Modern trends in human leukaemia V*; R. Neth, R.C. Gallo, M.F. Greaves, M.A.S. Moore, K. Winkler (eds); Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1983)
210. METCALF, D.: Regulator-induced suppression of myelomonocytic leukemic cells. Clonal analysis of early cellular events. *Int. J. Cancer* 30: 203 (1982)
211. METCALF, D.: Sources and biology of regulatory factors active on mouse myeloid leukemic cells. *J. Cell. Physiol. (Suppl.)* 1: 175 (1982)
212. METCALF, D.: Clonal analysis of proliferation and differentiation of paired daughter cells: Action of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on granulocyte-macrophage precursors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 5327 (1980)
213. METCALF, D., BURGESS, A.W., JOHNSON, G.R.: Stimulation of multipotential and erythroid precursor cells by GM-CSF. *Exp. Hemat. Today*, pp. 3; Springer Verlag, New York Berlin (1980)
214. METCALF, D., JOHNSON, G.R., BURGESS, A.W.: Direct stimulation by purified GM-CSF of the proliferation of multipotential and erythroid precursor cells. *Blood* 55: 138 (1980)
215. METCALF, D.: Clonal analysis of the action of GM-CSF on the proliferation and differentiation of myelomonocytic leukemic cells. *Int. J. Cancer* 24: 616 (1979)
216. METCALF, D.: Regulation of hemopoiesis. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 20: 521 (1978)
217. METCALF, D.: Hemopoietic colonies. In vitro cloning of normal and leukaemic cells. (Recent results in cancer research, vol. 61) Springer Verlag, New York (1977)
217. METCALF, D., PARKER, J., CHESTER, H.M.: Formation of eosinophilic-like granulocytic colonies by mouse bone marrow cells in vitro. *J. Cell. Physiol.* 84: 275 (1974)
219. METCALF, D., MOORE, M.A.S., SHERIDAN, J.W.: Responsiveness of human granulocytic leukemic cells to colony-stimulating factor. *Blood* 43: 847 (1974)
220. Metcalf, D.: Regulation of granulocyte and monocyte-macrophage proliferation by colony stimulating factor (CSF): A review. *Exp. Hemat.* 1: 185 (1973)
221. METCALF, D.: Human leukaemia: Recent tissue culture studies on the nature of myeloid leukaemia. *Br. J. Cancer* 27: 191 (1973)
222. METCALF, D., MOORE, M.A.S.: Haemopoietic cells. North-Holland-Publishing Co. Amsterdam (1971)

223. METCALF, D.: The nature of leukemia: Neoplasm or disorder of hemopoietic regulation? *Med. J. Aust.* 2: 739 (1971)
224. MEURET, G., MARWENDEL, A., BRAND, E.T.: Makrophagenrekrutierung aus Blut-monozyten bei Entzündungsreaktionen der Haut. *Arch. Derm. Forsch.* 245: 254 (1972)
225. MEYTES, D.M.A., ORTEGA, J.A., SHORE, N.A. et al.: Human erythroid burst-promoting activity produced by phytohaemagglutinin-stimulated radioresistant peripheral blood mononuclear cells. *Blood* 54: 1050 (1979)
226. MILLER, A.M., PAGE, P.L., HARTWELL, B.L. et al.: Inhibition of growth of normal murine granulocytes by cocultured acute leukemic cells. *Blood* 50: 799 (1977)
227. MINTZ, U., SACHS, L.: Differences in inducing activity for human bone marrow colonies in normal serum and serum from patients with leukemia. *Blood* 42: 331 (1973)
228. MITROU, P.S., FISCHER, M., HÜBNER, K.: Some aspects of erythropoietic cell proliferation in erythroleukaemia. *Acta haemat.* 53: 65 (1975)
229. MIURA, Y., SUZUKI, S., MIZOGUCHI, H. et al.: Role of microenvironments in erythropoiesis. In: *Erythropoiesis*, K. Nakao, J.W. Fischer, F. Takaku (eds), pp. 219, University of Tokyo Press, Tokyo (1975)
230. MÖLLMANN, G.: Wirkungen von CML- und Leukopenie-Seren sowie Pokeweed-Mitogen-Überstand auf das Wachstum von Knochenmarkzellen bei chronisch-myeloischer Leukämie, untersucht mit der Suspensionskulturmethode über einen Zeitraum bis zu 16 Tagen. *Med. Diss. Berlin* (1983)
231. MOORE, M.A.S., GABRILOVE, J., SHERIDAN, A.: Therapeutic implications of serum factors inhibiting proliferation and inducing differentiation of myeloid leukemic cells. *Blood Cells* 9: 125 (1983)
232. MOORE, M.A.S., GABRILOVE, J., SHERIDAN, A.P.: Myeloid leukemic cell differentiation induced by human postendotoxin serum and vitamin analogues. *Hämatol. Bluttransfus.* 28: 327; *Modern trends in human leukemia V*; R. Neth, R.C. Gallo, M.F. Greaves, M.A.S. Moore, K. Winkler; Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1983)
233. MOORE, M.A.S.: G-CSF: Its relationship to leukemia differentiation-inducing activity and other hematopoietic regulators. *J.Cell. Physiol. (Suppl.)* 1: 53 (1982)
234. MOORE, M.A.S.: Regulatory interactions in normal and leukemic myelopoiesis. *Haematol. Bluttransfus.* 23: 171; *Modern trends in human leukemia III*, R. Neth, R.C. Gallo, Hofschneider P.-H. et al. (eds); Springer Verlag, Heidelberg Berlin (1979)

235. MOORE, M.A.S.: Humoral regulation of granulopoiesis. Clin. Haemat. 8/2: 287 (1979)
236. MOORE, M.A.S., SPITZER, G., METCALF, D. et al.: Monocyte production of colony stimulating factor in familial cyclic neutropenia. Br. J. Haemat. 27: 47 (1974)
237. MOORE, M.A.S., SPITZER, G., WILLIAMS, N. et al.: Agar culture studies in 127 cases of untreated acute leukemia. The prognostic value of reclassification of leukemia according to in vitro growth characteristics. Blood 44: 1 (1974)
238. MOORE, M.A.S., WILLIAMS, N., METCALF, D.: In vitro colony formation by normal and leukemic human hematopoietic cells: Interaction between colony-forming and colony-stimulating cells. J. Natl. Cancer Inst. 50: 591 (1973)
239. MOORE, M.A.S., WILLIAMS, N., METCALF, D.: In vitro colony formation by normal and leukemic human hematopoietic cells: Characterisation of the colony forming cells. J. Natl. Cancer Inst. 50: 603 (1973)
240. MORIYAMA, Y.: Inhibitors of erythropoiesis: Effects of red cell extracts on heme synthesis and erythroid colony formation in human bone marrow cultures. In: In vitro aspects of erythropoiesis, J.M. Murphy (ed.), pp. 64, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1978)
241. MORRIS, T.C., MCNEILL, T.A., BRIDGES, J.M.: Inhibition of normal in vitro colony-forming cells by cells from leukaemic patients. Br. J. Cancer 31: 641 (1975)
242. MOTOYOSHI, K., SUDA, T., KUSUMOTO, K. et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating and binding activities of purified human urinary colony-stimulating factor to murine and human bone marrow cells. Blood 60: 1378 (1982)
243. MOTOYOSHI, K., TAKAKU, F., MIZOGUCHI, H. et al.: Purification and some properties of colony stimulating factor from normal human urine. Blood 52: 1012 (1978)
244. MURPHY, M.J., URABE, A.: Modulatory effect of macrophages on erythropoiesis. In: In vitro aspects of erythropoiesis; M.J. Murphy (ed.); pp. 189; Springer Verlag, New York (1978)
245. NAPIER, J.A.F., DUNN, C.D.R., FORD, T.W. et al.: Pathophysiological changes in serum erythropoiesis stimulating activity. Br. J. Haemat. 35: 403 (1977)
246. NEUMANN, E.: Zur Regulation der Erythropoese. Acta med. Austriaca (Suppl.) 6: 360 (1979)

247. NEUMANN, E.: Nachweis von Erythropoese-inhibierendem Faktor (EIF) im Serum gesunder Probanden. *Wien. Klin. Wschr.* 17: 598 (1977)
248. NICOLA, N.A., METCALF, D.: Biochemical properties of differentiation factors for murine myelomonocytic leukemic cells in organ conditioned media - Separation from colony-stimulating factors. *J. Cell. Physiol.* 109: 253 (1981)
249. NICOLA, N., BURGESS, A.W., METCALF, D.: Similar molecular properties of granulocyte-macrophage colony stimulating factors produced by different mouse organs in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.* 254: 5290 (1979)
250. NICOLA, N.A., METCALF, D., JOHNSON, G.R. et al.: Separation of functionally distinct human granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Blood* 54: 614 (1979)
251. NIEDERDRAING, M.-C.: Die Wirkung von Serum eines Patienten mit chronischer Monozytenleukämie auf die Proliferation des menschlichen Knochenmarks in vitro. *Med. Diss. Berlin* (1979)
252. NISHIHARA, H., KIGASAWA, H.: Growth of human erythroid and erythroid-granulocytic colonies in culture without addition of exogenous erythropoietin. *Br. J. Haemat.* 49: 563 (1981)
253. NISSEN, C., MOSER, Y., SPECK, B.: Effects of human serum on the release of haemopoietic growth factors. *Br. J. Haemat.* 51: 385 (1982)
254. NISSEN, C.: Einblick in die Frühstadien der Hämoipoese mit Hilfe von In-vitro-Kulturen. *Schweiz. med. Wschr.* 112: 1411 (1982)
255. NISSEN, C., ISCOVE, N.N., SPECK, B.: High burst promoting activity (BPA) in serum of patients with aquired aplastic anaemia. *Exp. Hemat. Today*, pp. 79, Springer Verlag, New York Berlin (1979)
256. OGAWA, M., PORTER, P.N., NAKAHATA, T.: Renewal and commitment to differentiation of hemopoietic stem cells (An interpretive review). *Blood* 61: 823 (1983)
257. OGAWA, M., MACEACHERN, M.D., AVITA, L.: Human marrow erythropoiesis in culture: II. Heterogeneity in the morphology, time course of colony formation, and sedimentation velocities of the colony-forming cells. *Am. J. Hemat.* 3: 29 (1977)
258. OGAWA, M., PARMLEY, R.T., BANK, H.L. et al.: Human marrow erythropoiesis in culture. I. Characterisation of methylcellulose colony assay. *Blood* 48: 407 (1976)
259. OKABE, T., NOMURA, H., SATO, N. et al.: Large-scale preparation and characterisation of human colony-stimulating factor. *J. Cell. Physiol.* 110: 43 (1982)
260. OKABE, T., SATO, N., KONDO, Y. et al.: Establishment and characterisation of a human cancer cell line that produces human colony-stimulating factor. *Cancer Res.* 38: 3910 (1978)

261. OLEFFSON, T., OLSSON, I., VERGE, P.: Myeloperoxidase and lactoferrin of blood neutrophils and plasma in chronic granulocytic leukaemia. *Scand. J. Haemat.* 18: 113 (1977)
262. OLOFSSON, T., OLSSON, I.: Suppression of normal granulopoiesis in vitro by a leukemia associated inhibitor (LAI) derived from a human promyelocytic cell line (HL-60). *Leuk. Res.* 4: 437 (1980)
263. OLOFSSON, T., CLINE, M.J.: Inhibitor of hematopoietic cell proliferation derived from a human leukemic cell line. *Blood* 52: 143 (1978)
264. PALU, G.: Expression of colony stimulating activity (CSA) and production of colony forming unit(s) (CFU-C) by acute myeloid leukaemia cells showing maturation in short-term culture. *Haematologica* 67: 188 (1982)
265. PATT, L.M., HOUCK, J.C.: The incredible shrinking chalone. *FEBS Letters* 120: 163 (1980)
266. PELUS, L.M., BROXMEYER, H.E., MOORE, M.A.S.: Regulation of human myelopoiesis by prostaglandin E and lactoferrin. *Cell Tissue Kinet.* 14: 515 (1981)
267. PELUS, L.M., BROXMEYER, H.E., CLARKSON, B.D. et al.: Abnormal responsiveness of colony forming cells to inhibition by prostaglandin E. *Cancer Res.* 40: 2512 (1980)
268. PELUS, L.M., BROXMEYER, H.E., KURLAND, J.I.: Regulation of macrophage and granulocyte proliferation. *J. Exp. Med.* 150: 277 (1979)
269. PHILIP, M.A., STANDEN, G., FLETCHER, J.: Failure of chronic-granulocytic-leukaemia leucocytes to release an inhibitor of granulopoiesis. *Lancet* I: 866 (1981)
270. PLUZNITZ, D.H., SACHS, L.: The cloning of normal blast cells in tissue culture. *J. Cell. Comp. Physiol.* 66: 319 (1965)
271. PRICE, G.B., SENN, J.S., MCCULLOCH, E.A. et al.: The isolation and properties of granulocyte colony-stimulating activities from medium conditioned by human peripheral leucocytes. *Biochem. J.* 148, 209 (1975)
272. PRIVAL, J.T., PARAN, M., GALLO, R.C. et al.: Colony-stimulating factors in cultures of human peripheral blood cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 53: 1583 (1974)
273. QUEISSER, W., PEPPERL, U., KEMPGENS, U. et al.: Characterisation of ineffective erythropoiesis in erythroleukaemia. *Acta haemat.* 54: 65 (1975)
274. QUEISSER, W., GRAUBNER, A., HOELZER, D. et al.: Some characteristics of the proliferative activity of erythroblasts in untreated and treated acute leukaemia. *Acta haemat.* 49: 271 (1973)
275. QUESENBERRY, P.J., ZUCKERMAN, R., COPPOLA, M. et al.: Leukemic inhibition of normal hematopoiesis. *Haematol. Bluttransfus.* 23: 181, Modern trends in human leukemia III, R. Neth, R.C. Gallo, P.-H. Hofschneider et al. (eds), Springer

Verlag, Berlin Heidelberg New York (1979).

276. QUESENBERRY, P.J., RAPPEPORT, J., FONTEBUONU, J. et al.: Leukemic inhibition of normal murine hematopoiesis. *N. Engl. J. Med.* 299: 71 (1978)
277. REGE, A.B., BROOKINS, J., FISHER, J.W.: A radioimmunoassay for erythropoietin: Serum levels in normal human subjects and patients with hemopoietic disorders. *J. Lab. Clin. Med.* 100: 829 (1982)
278. REGENSBURGER, R.: Die Veränderung der Retikulozytenzahl in der Knochenmarkskoagulunkultur. *Med. Diss. Berlin* (1970)
279. REISNER, E.H.: Tissue culture of bone marrow. III. Myelostimulatory factors in serum of patients with myeloproliferative diseases. *Cancer* 20: 1679 (1967)
280. RICH, I.N., HEIT, W., KUBANEK, B.: Extrarenal erythropoietin production by macrophages. *Blood* 60: 1007 (1982)
281. RICH, I.N., ANSELSTETTER, V., HEIT, W. et al.: Release of erythropoietin from macrophages by treatment with silica. *J. Supramol. Struct.* 15: 169 (1981)
282. RICH, I.N., HEIT, W., KUBANEK, B.: Detection of an erythropoietic stimulating factor from macrophages treated with silica. *Exp. Hemat. (Suppl.)* 6: 126 (1979)
283. RINDERKNECHT, E., HUMBEL, R.E.: The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J. Biol. Chem.* 253: 2769 (1978)
284. ROBINSON, W.A., KURNICK, J.E., PIKE, B.L.: Colony growth of human leukemic peripheral blood cells in vitro. *Blood* 38: 500 (1971)
285. ROBINSON, W.A., PIKE, B.L.: Leukopoietic activity in human urine. The granulocytic leukemias. *N. Engl. J. Med.* 282: 1291 (1970)
286. RUSCETTI, F.W., COLLINS, S.J., WOODS, A.M. et al.: Clonal analysis of the response of human myeloid leukemic cell lines to colony-stimulating activity. *Blood* 58: 285 (1981)
287. RUSCETTI, F.W., CHERVENICK, P.A.: Release of colony-stimulating activity from thymus-derived lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 55: 520 (1975)
288. RYTÖMÄÄ, T.: Chalons and blood cells. In: *The year in hematology*; R. Stålber, J. Löbue, A.S. Gordon (eds); pp. 321; Plenum Medical Book Co., New York London (1978)
289. RYTÖMÄÄ, T.: Effect of granulocytic chalone on acute myeloid leukaemia in man. A follow-up study. *Lancet* I: 771 (1977)
290. RYTÖMÄÄ, T., VILPO, J.A., LEVANTO, A. et al.: Effect of granulocyte chalone on acute and chronic granulocytic leukaemia in man. Report of seven cases. *Scand. J. Haemat. (Suppl.)* 27: 5 (1976)

291. RYTÖMAA, T., KIVINIEMI, K.: Regression of generalized leukaemia in rat induced by the granulocytic chalone. *Eur. J. Cancer* 6: 401 (1970)
292. RYTÖMAA, T., KIVINIEMI, K.: Regulation system of blood cell production. In: *Control of cellular growth in adult organisms*; pp. 106; Academic Press, London (1967)
293. SAARNI, M.I., LINMAN, J.W.: Myelomonocytic leukemia: Disorderly proliferation of all marrow cells. *Cancer* 27: 1221 (1971)
294. SAMARUT, J., BOUABDELLI, M.: In vitro development of CFU-E and BFU-E in cultures of embryonic and post-embryonic chicken hematopoietic cells. *J. Cell. Physiol.* 105: 553 (1980)
295. SÁNCHEZ-FAYOS, J., OUTEIRINO, J., FERNÁNDEZ-RANADA, J.M. et al.: Kinetic behavior of "pathological" myeloblasts and "normal" erythroblasts in acute granulocytic leukemia. *Oncology* 40: 39 (1983)
296. SENN, J.S., MCCULLOCH, E.A., TILL, J.E.: Comparison of colony-forming ability of normal and leukaemic human bone marrow in cell culture. *Lancet* II. 597 (1967)
297. SHAH, R.G., CAPORALE, L.H., MOORE, M.A.S.: Characterisation of colony stimulating activity produced by human monocytes and phytohemagglutinin stimulated lymphocytes. *Blood* 50: 811 (1977)
298. SHAW, M.T.: Monocytic leukemias. *Human Pathology* 11: 215 (1980)
299. SJÖGREN, U.: Morphologic studies of the erythropoietic part of the bone marrow in myeloid leukaemias. *Scand. J. Haemat.* 22: 61 (1979)
300. SJÖGREN, U.: Mitotic activity in myeloid leukaemias. A study of 277 cases. *Scand. J. Haemat.* 20: 159 (1978)
301. SJÖGREN, U.: Mitotic activity in the granulopoietic precursor cells in the peripheral blood in chronic myeloid leukaemia. *Scand. J. Haemat.* 19: 309 (1977)
302. SJÖGREN, U.: Prognostic value of mitotic studies in myeloid leukaemias. *Acta med. scand.* 199: 289 (1976)
303. SJÖGREN, U.: Erythroblastic islands and extra-medullary erythropoiesis in chronic myeloid leukaemia. *Acta haemat.* 55: 272 (1976)
304. SJÖGREN, U.: Erythroblastic islands and ineffective erythropoiesis in acute myeloid leukaemia. *Acta haemat.* 54: 11 (1975)
305. SJÖGREN, U., BRANDT, L.: Composition and mitotic activity of the erythropoietic part of the bone marrow in chronic myeloid leukaemia. *Scand. J. Haemat.* 12: 18 (1974)
306. SJÖGREN, U., BRANDT, L.: Differences in morphology and mitotic activity between intra- and extra-medullary erythropoietic tissue in chronic myeloid

- leukaemia. Scand. J. Haemat. 13: 116 (1974)
307. SKOBLO, M.-R.: Die Beeinflussung der Proliferation von menschlichen Knochenmarkszellen durch Serum von Patienten mit chronisch-myeloischer Leukämie vor und nach Hitzebehandlung. Med. Diss. Berlin (1980)
308. SPIVAK, J.L., BRUBAKER, L.H., PERRY, S.: Intravascular granulocyte kinetics in acute leukemia. Blood 34: 582 (1969)
309. SZMITKOWSKI, M., PROKOPEWICZ, J., BIELAWIEC, M.: Granulopoietic activity (GA) and colony stimulating factor (CSF) in myeloproliferative diseases. Fol. haemat. (Lpz.) 107: 204 (1980)
310. SCHMALZL, F.: Acute monocytic leukemias. Hämatol. Bluttransfus. 27: 145; Disorders of the monocyte macrophage system; F. Schmalzl, D. Huhn, H.E. Schaefer (eds); Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1981)
311. SCHNURRBUSCH, E.: Die Wirkung von autologem Serum mit unterschiedlichen Konzentrationen auf das normale menschliche Knochenmark in Langzeitkulturen. Med. Dent. Diss. Berlin (1982)
312. SCHREIER, M.H., ISCOVE, N.N.: Haematopoietic growth factors are released in cultures of H-2-restricted helper T cells, accessory cells and specific antigen. Nature 287: 228 (1980)
313. STANCZYKIEWICZ-BILLOWICZ, I.: Influence of red blood cells breakdown products on erythropoiesis regulation. Bull. Acad. Pol. Sci. (Biol.) 25: 397 (1977)
314. STANLEY, E.R., HEARD, P.M.: Factors regulating macrophage production and growth. Purification and some properties of the colony stimulating factor from medium conditioned by mouse L cells. J. Biol. Chem. 252: 4305 (1977)
315. STANLEY, E.R., HANSEN, G., WOODCOCK, J. et al.: Colony stimulating factor and the regulation of granulopoiesis and macrophage production. Fed. Proc. 34: 2272 (1975)
316. STANLEY, E.R., METCALF, D., MARITZ, J.S. et al.: Standardized bioassay for bone marrow colony stimulating factor in human urine: Levels in normal man. J. Lab. Clin. Med. 79: 657 (1972)
317. STEINBERG, H.N., ROBINSON, S.H.: Leukemic cell suppression of normal bone marrow colony formation : Effect of conditioned media from induced and uninduced leukemic cells. Exp. Hemat. Vol. 11, Suppl. 14, p. 87 (1983)
318. STEINBERG, H.N., HANDLER, E.S.: Leukemic host influence on normal erythrocytic and granulocytic colony formation in in vivo plasma clot diffusion chamber cultures. Cancer Res. 39: 1575 (1979)
319. STEPHENSON, J.R., AXELRAAD, A.A., MCLEOD, D.L. et al.: Induction of colonies of hemoglobin-synthesizing cells by erythropoietin in vitro.

- Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68: 1542 (1971)
320. STERRY, K.: Die Wirkung von Granulozyten-Chalon auf proliferationskinetische Parameter von menschlichen Knochenmarkkulturen. Med. Diss. Berlin (1978)
321. STRYCKMANS, P.A., PEYER, A., COLLARD, E. et al.: Colony-inhibiting activity of polymorphonuclear cells in chronic myeloid leukemia. Blood Cells 3: 493 (1977)
322. TAETLE, R.: Acidic isoferritins (leukemia-associated inhibiting activity) fail to inhibit blast proliferation in acute myelogenous leukemia. Blood 58: 653 (1981)
323. TAETLE, R., KOESSLER, A.: Effects of cyclic nucleotides and prostaglandins on normal and abnormal human myeloid progenitor proliferation. Cancer Res. 40: 1223 (1980)
324. TAETLE, R., MENDELSON, J.: Modulation of normal and abnormal myeloid progenitor proliferation by cyclic nucleotides and  $PGE_1$ . Blood Cells 6: 701 (1980)
325. TILL, J.E., MCCULLOCH, E.A.: A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse and bone marrow cells. Radiat. Res. 14: 213 (1961)
326. TREPPERMAN, A.D., CURTIS, J.E., MCCULLOCH, E.A.: Erythropoietic colonies in cultures of human marrow. Blood 44: 659 (1974)
327. TOKSÖZ, D., DEXTER, T.M., LORD, B.I. et al.: The regulation of hemopoiesis in long-term bone marrow cultures. II. Stimulation and inhibition of stem cell proliferation. Blood 55: 931 (1980)
328. TUBIANA, M., FRINDEL, E.: Regulation of pluripotent stem cell proliferation and differentiation: The role of long-range humoral factors. J. Cell. Physiol. (Suppl.) 1: 13 (1982)
329. UDUPA, K.B., REISSMANN, K.R.: Stimulation of erythroblast formation in suspension cultures of murine marrow by a factor in normal mouse serum, and its relationship to erythropoietin. Exp. Hemat. 8: 1106 (1980)
330. VAN FURTH, R.: Current view of the mononuclear phagocyte system. Hämatol. Bluttransfus. 27: 3; Disorders of the monocyte macrophage system; F. Schmalzl, D. Huhn, H.E. Schaefer (eds); Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York (1981)
331. VAN FURTH, R., GOUD, T.J.L.M., VAN WAARDE, D.: Current studies on the proliferation of cells of the mononuclear phagocyte system. Exp. Hemat. Today pp. 65, Springer Verlag, New York Berlin (1978)
332. VAN WAARDE, D., HULSING-HESSELINK, E., VAN FURTH, R.: Humoral control of monocytopoiesis by an activator and an inhibitor. Agents Actions 8: 432 (1978)

333. VAN WAARDE, D., HULSING-HESSELINK, E., SANDKUYL, L.A. et al: Humoral regulation of monocytopoiesis during the early phase of an inflammatory reaction caused by particulate substances . Blood 50: 141 (1977)
334. VAN WAARDE, D., HULSING-HESSELINK, E., VAN FURTH, R.: Properties of a factor increasing monocytopoiesis (FIM) occurring in the serum during the early phase of an inflammatory reaction. Blood 50: 727 (1977)
335. VAN ZANT, G., GOLDWASSER, E., PECH, N.: Competition between erythropoietin and colony-stimulating factor for target cells in mouse marrow. Blood 53: 946 (1979)
336. VAN ZANT, G., GOLDWASSER, E.: Suppression of erythroid differentiation by colony-stimulating factor. Exp. Hemat. Today pp. 63, Springer Verlag, New York Berlin (1979)
337. VAN ZANT, G., GOLDWASSER, E.: Competitive effects of erythropoietin and colony-stimulating factor. In: Differentiation of normal and neoplastic hemopoietic cells. Book A, pp. 165, Cold Spring Harbor Lab. (1978)
338. VAN ZANT, G., GOLDWASSER, E.: Simultaneous effects of erythropoietin and colony stimulating factor on bone marrow cells. Science 198: 733 (1977)
339. WAGEMAKER, G.: Early erythropoietin-independent stage of in vitro erythropoiesis: Relevance to stem cell differentiation. Exp. Hemat. Today pp. 47, Springer Verlag, New York Berlin (1980)
340. WAGEMAKER, G.: Cellular and soluble factors influencing the differentiation of primitive erythroid progenitor cells (BFU-E) in vitro. In: In vitro aspects of erythropoiesis. M.J. Murphy (ed.), pp. 44, Springer Verlag, Heidelberg New York Berlin (1978)
341. WARD, H.P., KURNICK, J.E., PISARCZYK, M.J.: Serum level of erythropoietin in anemias associated with chronic infection, malignancy, and primary hemato-poietic disease. J. Clin. Invest. 50: 332 (1971)
342. WEETMAN, R.M., CHILCOTE, R.R., RIERDEN, W.J. et al.: In vitro characteristics of childhood leukemic monoblasts. Exp. Hemat. 6: 9 (1978)
343. WESTEN, H., BAINTON, D.F.: Association of alkaline-phosphatase positive reticulum cells in bone marrow with granulocytic precursors. J. Exp. Med. 150: 919 (1979)
344. WIGGANS, R.G., JACOBSON, R.J., FIALKOW, P.J. et al.: Probable clonal origin of acute myeloblastic leukemia following radiation and chemotherapy of colon cancer. Blood 52: 659 (1978)
345. WILLIAMS, N.: Preferential inhibition of murine macrophage colony formation by prostaglandin E. Blood 53: 1089 (1979)

346. WOOD, W.G.: Erythroid cell proliferation in human bone marrow suspension cultures. *Br. J. Haemat.* 26: 441 (1974)
347. WRIGHT, E.G., LORD, B.I., DEXTER, T.M. et al.: Mechanisms of haemopoietic stem cell proliferation control. *Blood Cells* 5: 247 (1979)
348. ZAKHAROV, Y., PRENANT, M.: Influence des surnageants de culture de macrophages provenant des flot érythroblastiques sur l'érythropoïèse du rat. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 25: 17 (1983)
349. ZUCKER, S., LYSIK, R.M., CHIKKAPPA, G. et al.: Very low density lipoprotein hematopoiesis inhibitor from rat plasma. *Exp. Haemat.* 8: 895 (1980)
350. ZUCKER, S., MICHAEL, M.S., LYSIK, R.M. et al.: Lipoprotein inhibitor of bone marrow cells in tumor-bearing rats. *Cell Tissue Kinet.* 12: 393 (1979)
351. ZUCKER, S., FRIEDMAN, S., LYSIK, R.M.: Bone marrow erythropoiesis in the anemia of infection, inflammation, and malignancy. *J. Clin. Invest.* 53: 1132 (1974)
352. ZUCKERMAN, K.S.: Human erythroid burst-forming units: Growth in vitro is dependent on monocytes but not on T-lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 67: 702 (1981)
353. ZUCKERMAN, K.S.: Stimulation of human BFU-E by products of human monocytes and lymphocytes. *Exp. Hemat.* 8: 924 (1980)

## 7 Anhang: Tabellen und Signifikanzberechnungen

### 7.1 Versuchsreihe I (Versuche I - IV)

Tabelle 1: Erythroblasten-Mitoseindices (Ebl-MI) in %, Versuche I - IV

| Tage<br>Versuch | 0    | 1    |      | 3    |      | 5    |      | 8    |      | 10 |      |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----|------|
|                 |      | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es | MoL  |
| I               | 4,8  | 9,2  | 24,6 | 9,9  | 16,2 | 0    | 57,1 | 20,8 | 21,3 | 0  | 0    |
| II              | 26,6 | 15,5 | 25,0 | 35,1 | 16,4 | 0    | 27,2 | 0    | 19,6 | 0  | 0    |
| III             | 29,2 | 23,9 | 21,1 | 26,3 | 31,2 | 18,6 | 36,4 | 0    | 29,4 | 0  | 31,3 |
| IV              | 20,5 | 26,7 | 14,8 | 30,2 | 21,4 | 0    | 19,5 | 0    | 15,4 | 0  | 15,2 |
| $\bar{x}$       | 20,3 | 18,8 | 21,4 | 25,4 | 21,3 | 4,7  | 35,1 | 5,2  | 21,4 | 0  | 11,6 |

Tabelle 2: Granuloblasten-Mitoseindices (Gbl-MI) in %, Versuche I - IV

| Tage<br>Versuch | 0    | 1    |      | 3    |      | 5    |      | 8    |      | 10   |      |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                 |      | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  |
| I               | 3,6  | 12,0 | 10,7 | 8,8  | 12,3 | 4,0  | 13,8 | 5,3  | 12,4 | 0    | 15,3 |
| II              | 11,3 | 10,4 | 16,2 | 6,7  | 24,8 | 18,8 | 23,9 | 7,3  | 17,1 | 13,8 | 17,9 |
| III             | 24,9 | 31,6 | 68,5 | 35,1 | 77,9 | 36,2 | 66,8 | 14,7 | 37,3 | 21,7 | 29,8 |
| IV              | 20,1 | 21,7 | 66,3 | 35,5 | 62,6 | 16,3 | 30,9 | 22,1 | 46,0 | 16,5 | 25,2 |
| $\bar{x}$       | 15,0 | 18,9 | 40,4 | 21,5 | 44,4 | 18,8 | 33,9 | 12,4 | 28,2 | 13,0 | 22,1 |

Tabelle 2.1: Prozentuale Zunahme des Gbl-Mitoseindex durch MoL-S-Zusatz im Vergleich zu Es-Zusatz

| Tage<br>Versuch | 0 | 1   | 3   | 5   | 8   | 10  |
|-----------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|
|                 |   |     |     |     |     |     |
| I               | - | 89  | 140 | 345 | 234 | -   |
| II              | - | 156 | 370 | 127 | 234 | 130 |
| III             | - | 217 | 222 | 185 | 254 | 137 |
| IV              | - | 306 | 176 | 190 | 208 | 153 |
| $\bar{x}$       | - | 192 | 206 | 165 | 186 | 126 |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

Tabelle 3: Promonozyten-Mitosen : Promonozyten, Versuche I - IV

| Tage<br>Versuch | 0     | 1    |       | 3    |      | 5    |      | 8     |      | 10   |      |
|-----------------|-------|------|-------|------|------|------|------|-------|------|------|------|
|                 |       | Es   | MoL   | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es    | MoL  | Es   | MoL  |
| I               | 0:72  | 0:42 | 1:47  | 0:30 | 1:15 | 0: 8 | 1:19 | 1:33  | 0:10 | 0:18 | 1:11 |
| II              | 1:44  | 0: 4 | 2:63  | 0:34 | 1:17 | 0: 4 | 0: 9 | 0: 3  | 0: 7 | 0: 8 | 1:40 |
| III             | 2:29  | 1:21 | 4:34  | 1:14 | 1:16 | 0:27 | 1:20 | 0:32  | 1:22 | 3:36 | 0:16 |
| IV              | 0: 5  | 0:32 | 0: 2  | 1:11 | 2:33 | 0:21 | 0:28 | 0:38  | 1:15 | 0:18 | 0:21 |
| $\bar{X}$       | 3:150 | 1:99 | 7:146 | 2:89 | 5:81 | 0:60 | 2:76 | 1:106 | 2:44 | 3:80 | 2:88 |

Tabelle 4: Erythroblasten-Reifungsindices (Ebl-RI), Versuche I - IV

| Tage<br>Versuch | 0    | 1    |      | 3    |      | 5    |      | 8    |      | 10   |      |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                 |      | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  |
| I               | 19,4 | 4,98 | 61,0 | 0,84 | 6,70 | 0,53 | 0,98 | 0,18 | 0,41 | 0,13 | 0,14 |
| II              | 100  | 12,5 | 25,9 | 2,11 | 2,61 | 0,03 | 5,25 | 0,27 | 2,08 | 0,40 | 3,27 |
| III             | 10,8 | 28,9 | 27,3 | 8,94 | 23,7 | 2,30 | 4,08 | 1,09 | 1,33 | 0,29 | 0,71 |
| IV              | 6,87 | 23,4 | 79,8 | 6,82 | 7,91 | 7,00 | 3,28 | 2,17 | 0,69 | 0,53 | 1,02 |
| $\bar{X}$       | 12,3 | 13,4 | 38,7 | 3,21 | 7,91 | 1,44 | 2,82 | 0,45 | 0,95 | 0,34 | 0,76 |

Tabelle 5: Granuloblasten-Reifungsindices (Gbl-RI), Versuche I - IV

| Tage<br>Versuch | 0    | 1    |      | 3    |      | 5    |      | 8    |      | 10   |      |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                 |      | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  |
| I               | 1,03 | 1,13 | 2,03 | 0,97 | 1,04 | 0,87 | 0,95 | 5,77 | 3,30 | 3,07 | 1,47 |
| II              | 0,93 | 2,70 | 4,70 | 3,04 | 2,47 | 0,96 | 0,97 | 0,77 | 0,66 | 1,00 | 0,47 |
| III             | 2,32 | 7,33 | 2,40 | 1,98 | 1,41 | 0,59 | 0,37 | 0,69 | 0,24 | 1,18 | 0,13 |
| IV              | 1,16 | 1,80 | 1,60 | 0,73 | 1,36 | 0,50 | 0,74 | 0,54 | 0,22 | 0,58 | 0,28 |
| $\bar{X}$       | 1,21 | 2,26 | 2,47 | 1,41 | 1,50 | 0,72 | 0,74 | 0,89 | 0,59 | 0,97 | 0,31 |

Es = Eigenserum-Zusatz

MoL = MoL-Serum-Zusatz

Tabelle 6: Monopoese-Granulopoese-Indices (Mo/G-I), Versuche I - IV

| Tag<br>Versuch | 0     | 1     |       | 3     |       | 5     |       | 8     |       | 10    |       |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                |       | Es    | MoL   | Es    | MoL   | Es    | MoL   | Es    | MoL   | Es    | MoL   |
| I              | 0,093 | 0,079 | 0,125 | 0,126 | 0,178 | 0,050 | 0,106 | 0,706 | 0,398 | 13,8  | 4,64  |
| II             | 0,125 | 0,026 | 0,102 | 0,087 | 0,084 | 0,040 | 0,088 | 0,147 | 0,195 | 0,362 | 0,941 |
| III            | 0,066 | 0,102 | 0,258 | 0,208 | 0,334 | 0,207 | 0,380 | 0,149 | 0,369 | 0,181 | 0,251 |
| IV             | 0,012 | 0,110 | 0,086 | 0,121 | 0,186 | 0,100 | 0,132 | 0,214 | 0,211 | 0,710 | 2,21  |
| $\bar{X}$      | 0,070 | 0,074 | 0,129 | 0,132 | 0,170 | 0,093 | 0,144 | 0,252 | 0,287 | 0,821 | 1,19  |

Tabelle 7: Granulopoese-Erythropoese-Indices (G/E-I), Versuche I - IV

| Tag<br>Versuch | 0   | 1   |     | 3    |     | 5    |     | 8    |     | 10   |      |
|----------------|-----|-----|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|------|
|                |     | Es  | MoL | Es   | MoL | Es   | MoL | Es   | MoL | Es   | MoL  |
| I              | 1,7 | 2,1 | 1,8 | 6,2  | 3,6 | 12,2 | 7,0 | 2,8  | 7,2 | 10,1 | 2,0  |
| II             | 4,8 | 2,7 | 2,6 | 18,9 | 5,4 | 49,3 | 8,2 | 113  | 8,7 | 186  | 6,8  |
| III            | 1,3 | 1,0 | 0,6 | 3,8  | 1,4 | 5,8  | 3,3 | 10,8 | 7,0 | 15,7 | 18,8 |
| IV             | 2,4 | 1,3 | 1,1 | 5,5  | 1,5 | 17,2 | 4,1 | 27,2 | 9,1 | 21,6 | 4,2  |
| $\bar{X}$      | 2,1 | 1,6 | 1,3 | 6,3  | 2,3 | 12,8 | 5,0 | 10,5 | 8,0 | 24,0 | 6,4  |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

Tabelle 8: Signifikanzberechnungen der Granuloblastenmitosen der Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | Mitosen | Gbl  | $\chi^2$ | p                  |
|------|--------|---------|------|----------|--------------------|
| 1    | Es     | 57      | 3025 | 13,49    | $3 \times 10^{-6}$ |
|      | MoL    | 96      | 2806 |          |                    |
| 3    | Es     | 66      | 3346 | 23,31    | $10^{-5}$          |
|      | MoL    | 112     | 2756 |          |                    |
| 5    | Es     | 46      | 2661 | 7,24     | 0,007              |
|      | MoL    | 67      | 2344 |          |                    |
| 8    | Es     | 30      | 2598 | 6,97     | 0,008              |
|      | MoL    | 41      | 1914 |          |                    |
| 10   | Es     | 33      | 1974 | 0,55     | 0,47               |
|      | MoL    | 16      | 763  |          |                    |

Tabelle 9: Signifikanzberechnungen der Erythroblastenmitosen der Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | Mitosen | Ebl  | $\chi^2$ | p      |
|------|--------|---------|------|----------|--------|
| 1    | Es     | 51      | 2472 | 0        | > 0,90 |
|      | MoL    | 62      | 3019 |          |        |
| 3    | Es     | 18      | 694  | 0,12     | 0,74   |
|      | MoL    | 41      | 1741 |          |        |
| 5    | Es     | 3       | 292  | 4,02     | 0,045  |
|      | MoL    | 26      | 810  |          |        |
| 8    | Es     | 1       | 163  | 1,65     | 0,20   |
|      | MoL    | 7       | 316  |          |        |
| 10   | Es     | 0       | 42   | 0,36     | 0,56   |
|      | MoL    | 2       | 216  |          |        |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

Gbl = teilungsfähige Granuloblasten (s. S. 28)

Ebl = teilungsfähige Erythroblasten (s. S. 28)

Tabelle 10: Signifikanzberechnungen der Erythroblasten-Reifungsindices (Ebl-RI) der Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | Ebl  | rE  | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|-----|----------|----------|
| 1    | Es     | 2472 | 185 | 68,4     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 3019 | 78  |          |          |
| 3    | Es     | 694  | 216 | 75,6     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 1741 | 220 |          |          |
| 5    | Es     | 292  | 203 | 35,3     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 810  | 287 |          |          |
| 8    | Es     | 163  | 363 | 37,7     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 316  | 333 |          |          |
| 10   | Es     | 42   | 125 | 17,3     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 216  | 283 |          |          |

Tabelle 11: Signifikanzberechnungen der Granuloblasten-Reifungsindices (Gbl-RI) der Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | Gbl  | Gz   | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|------|----------|----------|
| 1    | Es     | 3025 | 1338 | 3,25     | > 0,05   |
|      | MoL    | 2806 | 1138 |          |          |
| 3    | Es     | 3346 | 5716 | 2,11     | > 0,05   |
|      | MoL    | 2756 | 1841 |          |          |
| 5    | Es     | 2661 | 3691 | 0,33     | > 0,05   |
|      | MoL    | 2344 | 3183 |          |          |
| 8    | Es     | 2598 | 2917 | 113      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 1914 | 3267 |          |          |
| 10   | Es     | 1974 | 2026 | 493      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 763  | 2441 |          |          |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

Gbl = teilungsfähige Granuloblasten (s. S. 28)

Gz = nicht-teilungsfähige Granulozyten (s. S. 28)

Ebl = teilungsfähige Erythroblasten (s. S. 28)

rE = nicht-teilungsfähige, reife Erythroblasten

Tabelle 12: Signifikanzberechnungen der Promonozyten und Monozyten der Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | PMo+Mo | G    | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|--------|------|----------|----------|
| 1    | Es     | 196    | 4363 | 51,80    | < 0,0005 |
|      | MoL    | 329    | 3944 |          |          |
| 3    | Es     | 158    | 5716 | 7,21     | < 0,01   |
|      | MoL    | 170    | 4597 |          |          |
| 5    | Es     | 127    | 6352 | 9,32     | < 0,005  |
|      | MoL    | 158    | 5527 |          |          |
| 8    | Es     | 193    | 5515 | 4,52     | < 0,05   |
|      | MoL    | 144    | 5181 |          |          |
| 10   | Es     | 172    | 4000 | 1,19     | > 0,05   |
|      | MoL    | 155    | 3204 |          |          |

Tabelle 13: Signifikanzberechnungen der Makrophagen der Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | Mak  | Ges.-zz. | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|----------|----------|----------|
| 1    | Es     | 114  | 8020     | 2,30     | > 0,05   |
|      | MoL    | 138  | 8004     |          |          |
| 3    | Es     | 577  | 8000     | 0,00     | > 0,90   |
|      | MoL    | 584  | 8004     |          |          |
| 5    | Es     | 453  | 7990     | 25,7     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 613  | 8000     |          |          |
| 8    | Es     | 1147 | 7952     | 0,00     | > 0,90   |
|      | MoL    | 1300 | 7991     |          |          |
| 10   | Es     | 2972 | 8005     | 67,3     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 3481 | 8030     |          |          |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

PMo+Mo = Promonozyten + Monozyten

G = Gesamtzellzahl der Granulopoese (s. S. 27)

Mak = Makrophagen

Ges.-zz. = Gesamtzahl aller Zellen

Tabelle 14; Signifikanzberechnungen aller monozytären Zellen einschließlich der Makrophagen, Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | MØ   | GØ   | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|------|----------|----------|
| 1    | Es     | 310  | 4477 | 52,8     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 467  | 4082 |          |          |
| 3    | Es     | 735  | 6293 | 20,8     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 754  | 5181 |          |          |
| 5    | Es     | 580  | 6805 | 56,2     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 771  | 6140 |          |          |
| 8    | Es     | 1340 | 6662 | 9,23     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 1444 | 6481 |          |          |
| 10   | Es     | 3144 | 6972 | 118      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 3636 | 6685 |          |          |

Tabelle 15: Signifikanzberechnungen der Granulopoese-Erythropoese-Indices (G/E-I) der Versuche I - IV

| Tage | Es/MoL | E    | G    | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|------|----------|----------|
| 1    | Es     | 2657 | 4363 | 54,8     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 3097 | 3944 |          |          |
| 3    | Es     | 910  | 5716 | 506      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 1961 | 4597 |          |          |
| 5    | Es     | 495  | 6352 | 281      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 1097 | 5527 |          |          |
| 8    | Es     | 526  | 5515 | 19,5     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 649  | 5181 |          |          |
| 10   | Es     | 167  | 4000 | 227      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 499  | 3204 |          |          |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

MØ = alle monozytären Zellen einschl. Makrophagen

GØ = Gesamtzellzahl der Granulopoese + Makrophagen (s. S. 27)

E = Gesamtzellzahl der Erythropoese (s. S. 27)

G = Gesamtzellzahl der Granulopoese (s. S. 27)

## 7.2 Versuchsreihe II (Versuche V - IX)

Tabelle 16: Granuloblasten-Mitoseindices (Gbl-MI), Versuche V - IX

| Tage<br>Versuch | 0   | 2-3  |      | 4-5 |      | 6-7 |      | 8-10 |      |
|-----------------|-----|------|------|-----|------|-----|------|------|------|
|                 |     | Es   | MoL  | Es  | MoL  | Es  | MoL  | Es   | MoL  |
| V               | 7,4 | 12,7 | 30,1 | 4,7 | 60,8 | 0   | 33,3 | 0    | 10,0 |
| VI              | 7,2 | 7,4  | 21,9 | 0   | 11,2 | 0   | 15,3 | 0    | 15,7 |
| VII             | 0   | 0    | 53,2 | 0   | 0    | 0   | 0    | 0    | 0    |
| VIII            | 0   | 0    | 71,4 | 0   | 51,3 | 0   | 0    | 0    | 0    |
| IX              | 9,6 | 69,0 | 114  | 0   | 59,0 | 0   | 0    | 0    | 0    |
| $\bar{X}$       | 6,3 | 12,9 | 37,5 | 1,7 | 37,6 | 0   | 19,3 | 0    | 13,7 |

Tabelle 17: Granuloblasten-Reifungsindices (Gbl-RI), Versuche V - IX

| Tage<br>Versuch | 0    | 2-3  |      | 4-5  |      | 6-7  |      | 8-10 |      |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                 |      | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  |
| V               | 1,25 | 1,81 | 0,12 | 0,78 | 0,68 | 0,49 | 0,34 | 0,54 | 0,29 |
| VI              | 1,33 | 1,95 | 1,51 | 1,57 | 0,58 | 0,89 | 0,38 | 1,29 | 0,73 |
| VII             | 0,26 | 0,72 | 0,54 | 0,32 | 0,05 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| VIII            | 0,13 | 0,10 | 0,14 | 0,17 | 0,20 | 0,16 | 0,20 | 0,12 | 0,00 |
| IX              | 0,24 | 0,42 | 0,22 | 0,16 | 0,09 | 0,17 | 0,01 | 0,00 | 0,00 |
| $\bar{X}$       | 0,50 | 0,88 | 0,68 | 0,62 | 0,37 | 0,44 | 0,24 | 0,60 | 0,42 |

Tabelle 18: Monopoese-Granulopoese-Indices (Mo/G-I), Versuche V - IX

| Tage<br>Versuch | 0    | 2-3  |      | 4-5  |      | 6-7  |      | 8-10 |      |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                 |      | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  | Es   | MoL  |
| V               | 0,01 | 0,00 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,03 | 0,10 | 0,07 | 0,04 |
| VI              | 0,04 | 0,20 | 0,08 | 0,14 | 0,04 | 0,28 | 0,03 | 0,13 | 0,08 |
| VII             | 0,07 | 0,80 | 0,61 | 0,57 | 1,18 | 1,80 | 1,82 | 10,9 | 12,9 |
| VIII            | 0,12 | 0,34 | 0,29 | 1,63 | 0,53 | 1,70 | 2,43 | 6,47 | 397  |
| IX              | 1,44 | 2,88 | 4,63 | 6,18 | 31,3 | 7,91 | 22,9 | 500  | 13,7 |
| $\bar{X}^*$     | 0,06 | 0,26 | 0,19 | 0,30 | 0,28 | 0,55 | 0,52 | 0,77 | 0,94 |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

\* Mittelwerte ohne Berücksichtigung von Versuch IX

Tabelle 19: Signifikanzberechnungen der Granuloblastenmitosen der Versuche V - IX

| Tage | Es/MoL | Mitosen | Gbl  | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|---------|------|----------|----------|
| 2-3  | Es     | 20      | 1554 | 18,8     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 54      | 1440 |          |          |
| 4-5  | Es     | 2       | 1184 | 39,0     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 32      | 852  |          |          |
| 6-7  | Es     | 0       | 764  | 17,9     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 10      | 520  |          |          |
| 8-10 | Es     | 0       | 816  | 11,3     | < 0,001  |
|      | MoL    | 8       | 582  |          |          |

Tabelle 20: Signifikanzberechnungen der Granuloblastenreifungsindices (Gbl-RI) der Versuche V - IX

| Tage | Es/MoL | Gbl  | Gz   | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|------|----------|----------|
| 2-3  | Es     | 1554 | 1766 | 27,9     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 1440 | 2120 |          |          |
| 4-5  | Es     | 1180 | 1894 | 91,0     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 852  | 2294 |          |          |
| 6-7  | Es     | 764  | 1744 | 88,6     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 520  | 2178 |          |          |
| 8-10 | Es     | 816  | 1370 | 27,4     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 582  | 1382 |          |          |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

Gbl = teilungsfähige Granuloblasten (s. S. 28)

Gz = nicht-teilungsfähige Granulozyten (s. S. 28)

Tabelle 21: Signifikanzberechnungen der Promonozyten und Monozyten der Versuche V - VIII\*

| Tage | Es/MoL | Pmo+Mo | G    | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|--------|------|----------|----------|
| 2-3  | Es     | 72     | 2928 | 22,6     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 146    | 3068 |          |          |
| 4-5  | Es     | 78     | 2812 | 0,40     | > 0,05   |
|      | MoL    | 68     | 2727 |          |          |
| 6-7  | Es     | 76     | 2298 | 20,6     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 30     | 2250 |          |          |
| 8-10 | Es     | 72     | 1958 | 33,5     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 16     | 1862 |          |          |

Tabelle 22: Signifikanzberechnungen der Makrophagen der Versuche V - VIII\*

| Tage | Es/MoL | Mak  | Ges.-zz. | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|----------|----------|----------|
| 2-3  | Es     | 672  | 4010     | 39,0     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 474  | 4000     |          |          |
| 4-5  | Es     | 682  | 4000     | 0,22     | > 0,05   |
|      | MoL    | 666  | 4000     |          |          |
| 6-7  | Es     | 1150 | 4000     | 0,24     | > 0,05   |
|      | MoL    | 1130 | 4000     |          |          |
| 8-10 | Es     | 1440 | 4000     | 45,2     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 1734 | 4000     |          |          |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

Pmo+Mo = Promonozyten + Monozyten

G = Gesamtzellzahl der Granulopoese (s. S. 27)

Mak = Makrophagen

Ges.-zz. = Gesamtzahl aller Zellen

\* Wegen der stärkeren und schnelleren Stimulation der Mono-  
poese im Versuch IX erfolgte die Signifikanzberechnung hier  
ohne Berücksichtigung dieses Versuchs.

Tabelle 23: Signifikanzberechnungen aller monozytären Zellen einschließlich der Makrophagen, Versuche V - VIII\*

| Tage | Es/MoL | MØ   | GØ   | $\chi^2$ | p       |
|------|--------|------|------|----------|---------|
| 2-3  | Es     | 744  | 3600 | 25,2     | <0,0005 |
|      | MoL    | 620  | 3490 |          |         |
| 4-5  | Es     | 760  | 3290 | 2,06     | >0,05   |
|      | MoL    | 734  | 3392 |          |         |
| 6-7  | Es     | 1226 | 3448 | 1,06     | >0,05   |
|      | MoL    | 1160 | 3380 |          |         |
| 8-10 | Es     | 1512 | 3398 | 12,20    | >0,001  |
|      | MoL    | 1750 | 3596 |          |         |

Tabelle 24: Signifikanzberechnungen der Promonozyten und Monozyten, Versuch IX

| Tage | Es/MoL | PMo+Mo | G   | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|--------|-----|----------|----------|
| 3    | Es     | 138    | 392 | 74,3     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 312    | 485 |          |          |
| 5    | Es     | 136    | 268 | 161      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 390    | 420 |          |          |
| 7    | Es     | 100    | 212 | 150      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 401    | 444 |          |          |
| 10   | Es     | 230    | 231 | 192      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 34     | 102 |          |          |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

MØ = alle monozytären Zellen einschl. Makrophagen

GØ = Gesamtzellzahl der Granulopoese + Makrophagen (s. S. 27)

PMo+Mo = Promonozyten + Monozyten

G = Gesamtzellzahl der Granulopoese

\* Wegen der stärkeren und schnelleren Stimulation der Mono-poese im Versuch IX erfolgte die Signifikanzberechnung hier ohne Berücksichtigung dieses Versuchs.

Tabelle 25: Signifikanzberechnungen der Makrophagen,  
Versuch IX

| Tage | Es/MoL | Mak | Ges.-zz. | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|-----|----------|----------|----------|
| 3    | Es     | 594 | 1000     | 24,4     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 484 | 1000     |          |          |
| 5    | Es     | 680 | 1000     | 36,8     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 548 | 1000     |          |          |
| 7    | Es     | 770 | 1000     | 141      | < 0,0005 |
|      | MoL    | 516 | 1000     |          |          |
| 10   | Es     | 770 | 1000     | 59,2     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 898 | 1000     |          |          |

Tabelle 26: Signifikanzberechnungen aller monozytären Zellen  
einschließlich der Makrophagen, Versuch IX

| Tage | Es/MoL | MØ   | GØ   | $\chi^2$ | p        |
|------|--------|------|------|----------|----------|
| 3    | Es     | 732  | 986  | 18,3     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 795  | 967  |          |          |
| 5    | Es     | 816  | 948  | 72,6     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 938  | 968  |          |          |
| 7    | Es     | 870  | 980  | 33,8     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 918  | 958  |          |          |
| 10   | Es     | 1000 | 1002 | 66,2     | < 0,0005 |
|      | MoL    | 932  | 68   |          |          |

Es = Eigenserum-Zusatz (40 %)

MoL = MoL-Serum-Zusatz (40 %)

Mak = Makrophagen

Ges.-zz. = Gesamtzahl aller Zellen

MØ = alle monozytären Zellen einschl. Makrophagen

GØ = Gesamtzellzahl der Granulopoese + Makrophagen

Frau Prof. Dr. med. I. Boll danke ich für  
ihren fachlichen Rat und die freundliche Unterstützung.

## Lebenslauf

- 17.01.1954 : geboren in Wehn als Sohn von Rudolf Barth und Emmi Barth, geb. Geilhausen
- 1960 - 1962 : Besuch der Grundschule Nord in Siegen
- 1962 - 1964 : Besuch der Grundschule Dreisbach in Eiserfeld
- 1964 - 1972 : Besuch des Städtischen Gymnasiums Siegen
- 24.05.1972 : Abitur
- WS 1972/73 - SS 1976 : Studium der Chemie an der Universität Bonn, unterbrochen durch den Grundwehrdienst (04/1973 - 06/1973)
- WS 1976/77 - SS 1983 : Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin
- 10.02.1977 : Diplom-Chemiker-Vorprüfung an der Universität Bonn
- 06.04.1978 : Ärztliche Vorprüfung
- 03.05.1983 : Ärztliche Prüfung
- 20.05.1983 : Approbation als Arzt
- 27.07.1983 : "Certificate of the Educational Commission for Foreign Medical Graduates", Philadelphia, USA





